



(12) BẢN MÔ TẢ SÁNG CHẾ THUỘC BẰNG ĐỘC QUYỀN SÁNG CHẾ

(19) Cộng hòa xã hội chủ nghĩa Việt Nam (VN)
CỤC SỞ HỮU TRÍ TUỆ

(11)



1-0027534

(51)⁷ A61K 38/37; A61K 35/14

(13) B

(21) 1-2013-01680

(22) 04/11/2011

(86) PCT/US2011/059297 04/11/2011

(87) WO/2012/061689 10/05/2012

(30) 61/410,437 05/11/2010 US

(45) 25/02/2021 395

(43) 25/09/2013 306A

(73) 1. Baxalta Incorporated (US)

1200 Lakeside Drive, Bannockburn, IL 60015, United States of America

2. Baxalta GmbH (CH)

Thurgauerstrasse 130, CH-8152 Glattpark, Opfikon, Switzerland

(72) LAI, Chee Kong (MY); STAFFORD, Roddy, Kevin (US).

(74) Công ty TNHH Tầm nhìn và Liên danh (VISION & ASSOCIATES CO.LTD.)

(54) BIẾN THỂ CỦA YẾU TỐ VIII, PHƯƠNG PHÁP SẢN XUẤT VÀ DƯỢC PHẨM CHỨA BIẾN THỂ NÀY

(57) Sáng chế thuộc lĩnh vực trị liệu bệnh ưa chảy máu. Sáng chế đề cập đến biến thể mới của yếu tố VIII chống bệnh ưa chảy máu có hoạt tính riêng tăng so với sản phẩm yếu tố VIII đã biết. Ngoài ra, sáng chế còn đề cập đến phương pháp sản xuất biến thể này và dược phẩm chứa biến thể này.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế thuộc lĩnh vực các yếu tố đông máu và bệnh ưa chảy máu. Sáng chế đề cập đến biến thể mới của yếu tố chống ưa chảy máu VIII (FVIII), được ký hiệu trong bản mô tả này là rFVIIIv3, có hoạt tính riêng tăng so với sản phẩm yếu tố VIII đã biết.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Máu đông cục bắt đầu khi tiểu cầu kết dính với thành cắt của mạch máu bị tổn thương ở vị trí thương tổn. Sau đó, trong thác phản ứng được điều tiết bởi enzym, phân tử fibrinogen tan được được chuyển hóa bởi enzym thrombin thành các sợi fibrin không tan, các sợi này giữ tiểu cầu với nhau tạo thành cục đông. Ở mỗi bước trong thác này, tiền chất biến thể được chuyển hóa thành proteaza để phân cắt tiền chất biến thể tiếp theo theo dây. Các đồng yếu tố được yêu cầu ở hầu hết các bước.

Yếu tố VIII (còn được gọi là yếu tố chống ưa chảy máu VIII hoặc FVIII) tuần hoàn dưới dạng tiền chất không có hoạt tính trong máu, được liên kết chặt chẽ và không cộng hóa trị với yếu tố von Willebrand. Yếu tố VIII được hoạt hóa theo cách phân giải protein bởi thrombin hoặc yếu tố Xa, mà phân tách nó khỏi yếu tố von Willebrand và hoạt hóa chức năng chất gây đông trước của nó trong thác phản ứng nêu trên. Ở dạng hoạt hóa của nó, biến thể của yếu tố VIIIa là đồng yếu tố giúp làm tăng hiệu quả xúc tác của yếu tố IXa đối với sự hoạt hóa yếu tố X thêm một vài bậc độ lớn.

Việc tách dòng FVIII ở người đã tiết lộ rằng biến thể này chứa 2332 axit amin được sắp xếp trong một số miền với trình tự A1-A2-B-A3-C1-C2 (Vehar et al., 1984, Nature 312, 337-342; Toole et al., 1984, Nature 312, 342-347 và Wood et al., 1984, Nature 312, 330-337). Hầu hết FVIII là heterodime trong huyết tương, chứa chuỗi nhẹ và nhiều dẫn xuất chuỗi nặng khác nhau. Cấu trúc

heterodime này là do sự phân cắt nhờ phân giải protein của tiền chất ở arginin¹⁶⁴⁸, tạo ra chuỗi nặng và chuỗi nhẹ bao gồm A₁-A₂-B và A₃-C₁-C₂, một cách tương ứng. Tính không đồng nhất trong chuỗi nặng được giải thích bởi sự phân giải protein hạn chế trong miền B đầu tận carboxy của nó.

Để thực hiện chức năng làm đông yếu tố để hoạt hóa yếu tố X, FVIII đòi hỏi sự phân giải protein hạn chế bởi yếu tố Xa hoặc thrombin. Bước hoạt hóa này liên quan đến sự phân cắt tại arginin ở các vị trí 372 và 740 trên chuỗi nặng và ở vị trí 1689 trên chuỗi nhẹ. Đã chứng minh được rằng so với tiền chất không có hoạt tính, đồng yếu tố FVIII có hoạt tính không có mảnh chuỗi nhẹ 1649-1689 và toàn bộ miền B (Mertens *et al.*, 1993).

Những người thiếu yếu tố VIII hoặc kháng thể chống yếu tố VIII không được điều trị bằng yếu tố VIII bị chảy máu trong không kiểm soát được, điều này có thể gây ra nhiều triệu chứng nghiêm trọng, từ các phản ứng viêm ở các khớp đến chết sớm. Những người mắc chứng máu loãng khó đông nghiêm trọng, chiếm khoảng 10.000 ở Hoa Kỳ, có thể được điều trị bằng cách truyền yếu tố VIII ở người, yếu tố này sẽ phục hồi khả năng đông bình thường của máu nếu được sử dụng với tần suất và nồng độ đủ. Định nghĩa cổ điển của yếu tố VIII, thực ra, là hợp chất có mặt trong huyết tương của máu bình thường mà sữa chữa khiếm khuyết đông máu trong huyết tương có nguồn gốc từ các cá thể mắc bệnh ưa chảy máu A.

Một số chế phẩm của yếu tố VIII có nguồn gốc từ huyết tương của người có mức độ tinh khiết khác nhau đã có sẵn trên thị trường để điều trị bệnh ưa chảy máu A. Các chế phẩm này gồm yếu tố VIII được tinh chế một phần có nguồn gốc từ máu hỗn hợp của nhiều người cho đã được xử lý virus bằng nhiệt và chất tẩy nhưng chứa mức đáng kể các biến thể có tính kháng nguyên; yếu tố VIII đã được tinh chế bằng kháng thể đơn dòng có mức tạp chất có tính kháng nguyên và sự nhiễm tạp virus thấp hơn; và yếu tố VIII tái tổ hợp ở người.

Sự phát triển của kháng thể ("chất ức chế" hoặc "kháng thể ức chế") mà ức chế hoạt tính của yếu tố VIII là biến chứng nghiêm trọng trong việc điều trị các bệnh nhân mắc bệnh ưa chảy máu.

Các kháng thể cùng loài phát triển ở gần 20% bệnh nhân mắc bệnh ưa chảy máu A để đáp ứng với việc truyền yếu tố VIII để trị liệu. Ở các bệnh nhân mắc bệnh ưa chảy máu A chưa được điều trị trước đây – những người phát triển chất ức chế, chất ức chế này thường phát triển trong vòng một năm điều trị. Ngoài ra, các kháng thể (tự kháng thể) mà làm bất hoạt yếu tố VIII thường phát triển ở các cá thể với mức yếu tố VIII bình thường trước đây. Nếu độ chuẩn của chất ức chế là đủ thấp, các bệnh nhân có thể được điều trị bằng cách làm tăng liều lượng của yếu tố VIII. Tuy nhiên, thường thì độ chuẩn của chất ức chế là cao nên không thể được áp đảo bởi yếu tố VIII. Phương pháp thay thế là bỏ qua nhu cầu đối với yếu tố VIII trong quá trình cầm máu thông thường sử dụng chế phẩm chất cô phức hợp prothrombin đã được hoạt hóa (ví dụ, KONYNE (Cutter Laboratories), FEIBA (Baxter Healthcare), PROPLEX (Baxter Healthcare)) hoặc yếu tố VIIa tái tổ hợp ở người. Ngoài ra, vì yếu tố VIII ở lợn thường có khả năng phản ứng với các chất ức chế ít hơn đáng kể so với yếu tố VIII ở người, chế phẩm yếu tố VIII ở lợn đã được tinh chế một phần (HYATE: C (IPSEN Pharma)) đã được sử dụng. Nhiều bệnh nhân những người phát triển kháng thể ức chế yếu tố VIII ở người đã được điều trị thành công nhờ yếu tố VIII ở lợn và chịu được sự điều trị như vậy trong khoảng thời gian dài.

Tuy nhiên, các mối quan tâm y tế về nguy cơ của các virus hoặc các chất nhiễm tạp sinh ra từ máu khác đã làm hạn chế tính hữu dụng của yếu tố VIII ở lợn được tinh chế từ máu lợn. Do đó, biến thể của yếu tố VIII tái tổ hợp ở lợn đã được phát triển, được ký hiệu là “OBI-1” và được mô tả ví dụ trong WO 01/68109. OBI-1 là FVIII ở lợn được làm khuyết miễn B một phần. Phân tử này hiện nay đang trong quá trình nghiên cứu lâm sàng.

Biến thể của yếu tố VIII đã được làm khuyết miễn B được biết là giữ được hoạt tính chất gây đông trước và hoạt tính đồng yếu tố của yếu tố VIII. Ngoài biến thể này, Mertens et al. (British Journal of Haematology 1993, 85, 133-142) mô tả biến thể của yếu tố VIII tái tổ hợp ở người thiếu miễn B và trình tự chuỗi nặng kéo dài từ Lysin 713 đến Arginin 740.

Nhiều người mắc chứng máu loãng khó đông đòi hỏi sự thay thế hàng ngày của yếu tố VIII để ngăn ngừa chảy máu và bệnh khớp ưa chảy máu biến

dạng. Do tình hình này, có nhu cầu đối với phân tử yếu tố VIII hiệu nghiệm hơn.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Theo khía cạnh thứ nhất, sáng chế đề cập đến biến thể của yếu tố VIII (FVIII) được làm khuyết miền B hoàn toàn hoặc một phần, tái tổ hợp, được phân lập, biến thể của FVIII này không có trình tự lên đến 27 axit amin tương ứng với axit amin từ 716 đến 742 của yếu tố VIII ở lợn như được mô tả trên Fig. 2 hoặc axit amin từ 714 đến 740 của SEQ ID NO: 7. Trình tự 27 axit amin này, NTGDYYEDSYEDISAYLLSKNNAIEPR (SEQ ID NO:10), có thể được làm khuyết một phần hoặc hoàn toàn.

Theo một phương án, sáng chế đề cập đến biến thể của FVIII được làm khuyết miền B hoàn toàn hoặc một phần, tái tổ hợp, được phân lập, biến thể của FVIII này không có trình tự lên đến 27 axit amin tương ứng với axit amin từ 716 đến 742 của yếu tố VIII ở lợn như được mô tả trên Fig. 2 hoặc axit amin từ 714 đến 740 của SEQ ID NO: 7, trong đó 27, 26, 25, 24, 23, 22, 21, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 hoặc 1 axit amin có thể được làm khuyết. Theo phương án khác, 27, 26, 25, 24, 23, 22, 21 hoặc 20 axit amin được làm khuyết. Theo phương án khác, 27, 26, hoặc 25 axit amin được làm khuyết. Theo phương án khác, 27 axit amin tương ứng với DIGDYDNTYEDIPGFLSGKNVIEPR (SEQ ID NO:10) được làm khuyết.

Theo một phương án, sáng chế đề cập đến biến thể của FVIII được làm khuyết miền B hoàn toàn hoặc một phần, tái tổ hợp, được phân lập, biến thể của FVIII này không có trình tự lên đến 27 axit amin tương ứng với axit amin từ 716 đến 742 của yếu tố VIII ở người như được mô tả trên Fig. 2 hoặc axit amin từ 714 đến 740 của SEQ ID NO: 8, trong đó 27, 26, 25, 24, 23, 22, 21, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 hoặc 1 axit amin có thể được làm khuyết. Theo phương án khác, 27, 26, 25, 24, 23, 22, 21 hoặc 20 axit amin được làm khuyết. Theo phương án khác, 27, 26, hoặc 25 axit amin được làm khuyết. Theo phương án khác, 27 axit amin tương ứng với NTGDYYEDSYEDISAYLLSKNNAIEPR (SEQ ID NO:11) được làm khuyết.

Theo phương án khác, sáng chế đề cập đến biến thể của FVIII ở lợn được làm khuyết miền B hoàn toàn hoặc một phần, tái tổ hợp, được phân lập, hoàn toàn không có 27 axit amin tương ứng với DIGDYYDNTYEDIPGFLLSGKNVIEPR (SEQ ID NO:10).

Theo phương án khác, sáng chế đề cập đến biến thể của FVIII ở người được làm khuyết miền B hoàn toàn hoặc một phần, tái tổ hợp, được phân lập, hoàn toàn không có 27 axit amin tương ứng với NTGDYYEDSYEDISAYLLSKNNAIEPR (SEQ ID NO:11).

Theo phương án khác, sáng chế đề cập đến biến thể của FVIII ở chó được làm khuyết miền B hoàn toàn hoặc một phần, tái tổ hợp, được phân lập hoàn toàn không có 27 axit amin tương ứng với NIDDYYEDTYEDIPTLLNENNVIKPR (SEQ ID NO:12).

Theo khía cạnh thứ hai, sáng chế đề cập đến polynucleotit mã hóa polypeptit như được xác định trong khía cạnh thứ nhất và các phương án đã được mô tả.

Theo khía cạnh thứ ba, sáng chế đề cập đến vector biểu hiện chứa polynucleotit như được xác định trong khía cạnh thứ hai.

Theo khía cạnh thứ tư, sáng chế đề cập đến tế bào động vật có vú chứa vector biểu hiện như được xác định trong khía cạnh thứ ba.

Theo khía cạnh thứ năm, sáng chế đề cập đến phương pháp sản xuất FVIII như được xác định trong khía cạnh thứ nhất, bao gồm các bước:

- a. Nuôi cấy tế bào động vật có vú theo khía cạnh thứ tư; và
- b. Phân lập biến thể của FVIII từ tế bào động vật có vú này.

Theo khía cạnh thứ sáu, sáng chế đề cập đến dược phẩm chứa biến thể của FVIII như được xác định trong khía cạnh thứ nhất.

Theo khía cạnh thứ bảy, sáng chế đề cập đến phương pháp điều trị bệnh nhân mắc bệnh ưa chảy máu bao gồm bước cho bệnh nhân cần được điều trị dùng lượng hữu hiệu có tác dụng trị liệu của biến thể của FVIII theo khía cạnh thứ nhất của sáng chế, nhờ đó điều trị bệnh ưa chảy máu ở bệnh nhân này.

Theo khía cạnh thứ tám, sáng chế đề cập đến biến thể của FVIII theo khía cạnh thứ nhất để sử dụng trong điều trị bệnh ưa chảy máu.

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

Fig. 1 thể hiện lượng protein tính bằng μg cho mỗi liều được yêu cầu đối với 5 sản phẩm FVIII đã biết (cột trắng) và rpFVIIIv3 mới (cột gạch sọc). BDD=Được làm khuyết miền B; FL=chiều dài đầy đủ; u= μ ;

Fig. 2 a-e là các biểu diễn nối tiếp của cùng một trình tự. Fig 2a-e thể hiện sự sắp hàng trình tự giữa các trình tự yếu tố VIII từ người (*homo sapiens*), lợn (*sus scrofa*), chuột (*mus musculus*) và chó (*canis familiaris*). Sự sắp hàng trình tự này được lấy từ HADB (aka HAMSTeRS) 2010, trang chủ của cơ sở dữ liệu Đột biến Bệnh ưa chảy máu A (Haemophilia A Mutation Database) và vị trí nguồn để thực hiện trên yếu tố VIII (hadb.org.uk). Việc đánh số tuân theo trình tự của người và không giống hệt với con số axit amin của các trình tự trong phần Danh mục trình tự. Trình tự được gạch dưới bằng nét đậm cộng với hai vạch mô tả trình tự không có mặt trong biến thể của FVIIIv3 tái tổ hợp theo sáng chế. Trình tự được gạch dưới là trình tự của miền B. Trình tự được nhấn mạnh bằng màu xám là phần từ miền B mà có thể được giữ lại trong các trình tự FIIIv3 được làm khuyết miền B một phần theo sáng chế; và

Fig. 3 thể hiện ví dụ tiêu biểu của profin SEC của các chuẩn hiệu chỉnh và sự hồi quy tuyến tính của đường chuẩn như được mô tả trong Ví dụ 5.

Mô tả vắn tắt các trình tự

SEQ ID NO: 1 thể hiện trình tự của FVIIIv3 ở lợn được làm khuyết miền B một phần;

SEQ ID NO: 2 thể hiện trình tự của FVIIIv3 ở người được làm khuyết miền B;

SEQ ID NO: 3 thể hiện trình tự của FVIIIv3 ở chó được làm khuyết miền B;

SEQ ID NO: 4 thể hiện trình tự từ miền B FVIII ở lợn mà có thể có mặt trong phân tử FVIII được làm khuyết miền B một phần theo sáng chế (được gọi là “Trình tự liên kết miền B”);

SEQ ID NO: 5 thể hiện trình tự liên kết miền B từ miền B FVIII ở người mà có thể có mặt trong phân tử FVIII được làm khuyết miền B một phần theo sáng chế;

SEQ ID NO: 6 thể hiện trình tự liên kết miền B từ miền B FVIII ở chó mà có thể có mặt trong phân tử FVIII được làm khuyết miền B một phần theo sáng chế;

SEQ ID NO: 7 thể hiện trình tự axit amin của FVIII chiều dài đầy đủ ở lợn;

SEQ ID NO: 8 thể hiện trình tự axit amin của FVIII chiều dài đầy đủ ở người;

SEQ ID NO: 9 thể hiện trình tự axit amin của FVIII chiều dài đầy đủ ở chó;

SEQ ID NO:10 thể hiện trình tự 27 peptit tương ứng với axit amin từ 716 đến 742 của yếu tố VIII ở lợn như được mô tả trên Fig. 2 hoặc axit amin từ 714 đến 740 của SEQ ID NO: 7;

SEQ ID NO:11 thể hiện trình tự 27 peptit tương ứng với axit amin từ 714 đến 740 của yếu tố VIII ở người như được mô tả trên Fig. 2 hoặc axit amin từ 714 đến 740 của SEQ ID NO: 8; và

SEQ ID NO:12 thể hiện trình tự 27 peptit tương ứng với axit amin từ 714 đến 740 của yếu tố VIII ở chó như được mô tả trên Fig. 2 hoặc axit amin từ 708 đến 734 của SEQ ID NO: 9.

Mô tả chi tiết sáng chế

Sáng chế dựa trên phát hiện về biến thể của protein yếu tố VIII tái tổ hợp ở lợn được làm khuyết miền B một phần chứa khuyết đoạn 27 axit amin cụ thể. Biến thể này, mà ở đây được ký hiệu là rpFVIIIv3, đã được thấy là có hoạt tính riêng tăng so với protein tương tự chứa đoạn 27 axit amin, cụ thể là FVIII

tái tổ hợp ở lợn được làm khuyết miền B một phần được gọi là “OBI-1”. OBI-1, trình tự axit amin của nó và các polynucleotit mã hóa OBI-1 đã được biết từ US 6,458,563 chẳng hạn.

Sáng chế đề cập đến biến thể của yếu tố VIII (FVIII) được làm khuyết miền B hoàn toàn hoặc một phần, tái tổ hợp, được phân lập, trong đó biến thể của FVIII này không có trình tự axit amin tương ứng với axit amin từ 716 đến 742 của yếu tố VIII ở lợn như được mô tả trên Fig. 2 hoặc axit amin từ 714 đến 740 của SEQ ID NO: 7.

Ngoài ra, sáng chế đề cập đến biến thể của FVIII được làm khuyết miền B hoàn toàn hoặc một phần, tái tổ hợp, được phân lập, biến thể của FVIII này không có trình tự 27 axit amin tương ứng với axit amin từ 716 đến 742 của yếu tố VIII ở lợn như được mô tả trên Fig. 2 hoặc axit amin từ 714 đến 740 của SEQ ID NO: 7, trong đó 27, 26, 25, 24, 23, 22, 21, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 hoặc 1 axit amin có thể được làm khuyết. Theo một biến thể, 27, 26, 25, 24, 23, 22, 21 hoặc 20 axit amin được làm khuyết. Theo biến thể khác, 27, 26, hoặc 25 axit amin được làm khuyết. Trong biến thể rpFVIIIv3, 27 axit amin tương ứng với DIGDYDNTYEDIPGFLLSGKNVIEPR (SEQ ID NO:10) được làm khuyết.

Ngoài ra, sáng chế đề cập đến biến thể của FVIII được làm khuyết miền B hoàn toàn hoặc một phần, tái tổ hợp, được phân lập, biến thể của FVIII này không có trình tự 27 axit amin tương ứng với axit amin từ 714 đến 740 của yếu tố VIII ở người như được mô tả trên Fig. 2 hoặc axit amin từ 714 đến 740 của SEQ ID NO: 8, trong đó 27, 26, 25, 24, 23, 22, 21, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 hoặc 1 axit amin có thể được làm khuyết. Theo một biến thể, 27, 26, 25, 24, 23, 22, 21 hoặc 20 axit amin được làm khuyết. Theo biến thể khác, 27, 26, hoặc 25 axit amin được làm khuyết. Trong biến thể của FVIIIv3 ở người (rhFVIIIv3), 27 axit amin tương ứng với NTGDYYEDSYEDISAYLLSKNNAIEPR (SEQ ID NO:11) được làm khuyết.

Ngoài ra, sáng chế đề cập đến biến thể của FVIII được làm khuyết miền B hoàn toàn hoặc một phần, tái tổ hợp, được phân lập, biến thể của FVIII này không có trình tự 27 axit amin tương ứng với axit amin từ 714 đến 740 của yếu

tổ VIII ở chỗ như được mô tả trên Fig. 2 hoặc axit amin từ 708 đến 734 của SEQ ID NO: 9, trong đó 27, 26, 25, 24, 23, 22, 21, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 hoặc 1 axit amin có thể được làm khuyết. Theo một biến thể, 27, 26, 25, 24, 23, 22, 21 hoặc 20 axit amin được làm khuyết. Theo biến thể khác, 27, 26, hoặc 25 axit amin được làm khuyết. Trong biến thể của FVIIIv3 ở chỗ (rcFVIIIv3), 27 axit amin tương ứng với NIDDYYEDTYEDIPTLLNENNVIKPR (SEQ ID NO:12) được làm khuyết.

Các biến thể như vậy có hoạt tính riêng cao so với các biến thể tương tự chứa trình tự 27 axit amin nguyên vẹn. Tốt hơn là, hoạt tính riêng được làm tăng nhiều hơn 25 % hoặc 30 % hoặc 35 % hoặc 40 % hoặc 45 % hoặc 50 % hoặc 55 % hoặc 60 %.

Thuật ngữ “hoạt tính riêng,” như được sử dụng ở đây, chỉ hoạt tính mà sẽ sửa chữa khiếm khuyết đông máu của huyết tương thiếu hụt yếu tố VIII ở người. Hoạt tính riêng được đo bằng đơn vị hoạt tính đông máu cho mỗi miligam biến thể của yếu tố VIII tổng trong thử nghiệm chuẩn trong đó thời gian đông của huyết tương thiếu hụt yếu tố VIII ở người được so sánh với thời gian đông của huyết tương người bình thường. Thử nghiệm chuẩn thích hợp để xác định công hiệu của sản phẩm FVIII, được FDA chấp nhận đối với chất cô FVIII độ tinh khiết cao, được gọi là thử nghiệm đông máu một giai đoạn (OSCA; xem Ví dụ 5; Langdell RD, Wagner RH, Brinkhous KM., Effect of antihemophilic factor on one-stage clotting tests: a presumptive test for hemophilia and a simple one-stage antihemophilic assay procedure, J Lab Clin Med, 1953; 41:637–47; Brand JT, Measurement of factor VIII: a potential risk factor for vascular disease, Arch Pathol Lab Med, 1993; 117:48–51; Preston FE, Kitchen S, Quality control and factor VIII assays, Haemophilia, 1998; 4:651–3; National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS USA). Determination of factor coagulant activities; Approved guideline, NCCLS Document H-48-A 1997; 17:1–36.). Lượng protein FVIII có mặt trong mẫu có thể được xác định *ví dụ* nhờ SEC HPLC (sắc ký lỏng tính năng cao loại trừ theo kích cỡ).

Một đơn vị của hoạt tính yếu tố VIII là hoạt tính có mặt trong một mililit huyết tương người bình thường. Trong thử nghiệm này, thời gian tạo thành cục đông máu càng ngắn, hoạt tính của yếu tố VIII đang được thử nghiệm càng lớn. Yếu tố VIII ở lợn có hoạt tính đông máu trong thử nghiệm yếu tố VIII ở người.

Trong bản mô tả này, các thuật ngữ “protein” và “polypeptit” được sử dụng thay thế lẫn nhau.

Cụm từ “không có trình tự axit amin tương ứng với axit amin từ 716 đến 742 như được mô tả trên Fig. 2” có nghĩa là axit amin 716 và 742, cũng như các axit amin giữa các vị trí này, được làm khuyết, *tức là*, không được bao gồm, trong biến thể của FVIII theo sáng chế. Đoạn axit amin này do đó gồm 27 axit amin, biến thể của FVIII theo sáng chế không có đoạn này.

Các biến thể của yếu tố VIII theo sáng chế được ký hiệu trong toàn bộ bản mô tả này là “(các) biến thể của FVIII” hoặc “FVIIIv3” hoặc “rFVIIIv3”. Các biến thể này có thể có nguồn gốc từ lợn, người, chó, chuột hoặc nguồn gốc bất kỳ khác thích hợp cho trị liệu cho người hoặc động vật. Fig. 2 mô tả sự sắp hàng trình tự của các trình tự FVIII có nguồn gốc từ người, lợn, chuột và chó.

Trình tự được làm khuyết trong các biến thể của FVIII theo sáng chế được nêu rõ bằng đường gạch dưới nét đậm và kép. Đoạn axit amin này có thể được nhận diện đối với các biến thể của FVIII của các loài khác bởi người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này bằng cách sắp hàng trình tự FVIII của các loài khác với, *ví dụ*, trình tự ở lợn hoặc người và lấy axit amin tương ứng với axit amin từ 716 đến 742 như đối với mỗi Fig.2 của đơn sáng chế này.

Các phương án của sáng chế đề cập đến các biến thể của FVIII có nguồn gốc từ lợn, người hoặc chó.

Theo một phương án, biến thể của FVIII theo sáng chế chứa trình tự của SEQ ID NO:1, hoặc biến thể của nó chứa trình tự có độ tương đồng trình tự ít nhất 90% với SEQ ID NO: 1. Cần phải hiểu rằng độ biến đổi 10% liên quan đến các trình tự nằm bên ngoài đoạn axit amin đã được làm khuyết, *tức là*, biến thể này hoàn toàn không có DIGDYDNTYEDIPGFLLSGKNVIEPR (SEQ

ID NO:10), trình tự axit amin tương ứng với axit amin từ 716 đến 742 của yếu tố VIII ở lợn như được mô tả trên Fig. 2 hoặc axit amin từ 714 đến 740 của SEQ ID NO: 7.

Theo phương án khác, biến thể của FVIII theo sáng chế chứa trình tự của SEQ ID NO:2, hoặc biến thể của nó chứa trình tự có độ tương đồng trình tự ít nhất 90% với SEQ ID NO: 2. Ngoài ra, biến thể này được hiểu là hoàn toàn không có trình tự axit amin NTGDYYEDSYEDISAYLLSKNNAIEPR (SEQ ID NO:11), tương ứng với axit amin từ 714 đến 740 của yếu tố VIII ở người như được mô tả trên Fig. 2 hoặc axit amin từ 714 đến 740 của SEQ ID NO: 8.

Theo phương án khác nữa, biến thể của FVIII theo sáng chế chứa trình tự của SEQ ID NO:3, hoặc biến thể của nó chứa trình tự có độ tương đồng trình tự ít nhất 90% với SEQ ID NO: 3. Thêm nữa, biến thể này được hiểu là hoàn toàn không có trình tự axit amin NIDDYYEDTYEDIPTPLNENNVKPR (SEQ ID NO:12) tương ứng với axit amin từ 714 đến 740 của yếu tố VIII ở chó như được mô tả trên Fig. 2 hoặc axit amin từ 708 đến 734 của SEQ ID NO: 9.

Biến thể của FVIII theo sáng chế cũng có thể chứa trình tự có độ tương đồng ít nhất bằng 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 99,5, 99,6, 99,7, 99,8 hoặc 99,9% với trình tự của SEQ ID NO: 7, 8 hoặc 9.

Để xác định phần trăm độ tương đồng của hai polypeptit/protein, các trình tự axit amin được sắp hàng cho mục đích so sánh tối ưu (ví dụ, các khoảng trống có thể được đưa vào trong trình tự của trình tự axit amin thứ nhất để sắp hàng tối ưu với trình tự axit amin thứ hai). Các gốc axit amin ở các vị trí axit amin tương ứng sau đó được so sánh. Khi vị trí trong trình tự thứ nhất được chiếm chỗ bởi cùng gốc axit amin như vị trí tương ứng trong trình tự thứ hai, thì các phân tử này là đồng nhất ở vị trí đó. Phần trăm độ tương đồng giữa hai trình tự là hàm của số lượng vị trí đồng nhất chung giữa các trình tự (*tức là*, % độ tương đồng = # của các vị trí tương đồng/tổng # các vị trí (ví dụ, (các vị trí chồng lặp)×100).

Việc xác định phần trăm độ tương đồng giữa hai trình tự có thể được thực hiện bằng cách sử dụng thuật toán. Một ví dụ được ưu tiên, không nhằm

mục đích giới hạn về thuật toán được sử dụng để so sánh hai trình tự là thuật toán của Karlin and Altschul (1990) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 87:2264–2268, được cải biến như trong Karlin and Altschul (1993) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90:5873–5877. Thuật toán này được kết hợp vào chương trình NBLAST và XBLAST của Altschul, *et al.* (1990) *J. Mol. Biol.* 215:403–410. Các tìm kiếm nucleotit BLAST có thể được thực hiện với chương trình NBLAST, điểm số=100, chiều dài từ=12 để thu được các trình tự nucleotit tương đồng với các phân tử axit nucleic theo sáng chế. Các tìm kiếm biến thể BLAST có thể được thực hiện với chương trình XBLAST, điểm số=50, chiều dài từ=3 để thu được trình tự axit amin tương đồng với các phân tử biến thể theo sáng chế. Để thu được các sắp hàng đã được tạo khoảng trống cho mục đích so sánh, BLAST đã được tạo khoảng trống có thể được sử dụng như được mô tả trong Altschul *et al.* (1997) *Nucleic Acids Res.* 25:3389–3402. Theo cách khác, PSI-Blast có thể được sử dụng để thực hiện tìm kiếm lặp lại mà phát hiện mối liên hệ không gần gũi giữa các phân tử. Khi sử dụng các chương trình BLAST, BLAST đã được tạo khe, và PSI-Blast, các thông số mặc định của các chương trình tương ứng (ví dụ, XBLAST và NBLAST) có thể được sử dụng. Một ví dụ được ưu tiên, không nhằm mục đích giới hạn khác về thuật toán được sử dụng để so sánh các trình tự là thuật toán của Myers and Miller, (1988) *CABIOS* 4:11–17. Thuật toán này được kết hợp vào chương trình ALIGN (phiên bản 2.0), là một phần của gói phần mềm sắp hàng trình tự GCG. Khi sử dụng chương trình ALIGN để so sánh các trình tự axit amin, bảng gốc khối lượng PAM120, điểm phạt chiều dài khoảng trống bằng 12, và điểm phạt khoảng trống bằng 4 có thể được sử dụng. Thuật toán hữu dụng khác để nhận diện các vùng có sự sắp hàng và độ tương tự trình tự cục bộ là thuật toán FASTA như được mô tả trong Pearson and Lipman (1988) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 85:2444–2448. Khi sử dụng thuật toán FASTA để so sánh trình tự nucleotit hoặc axit amin, bảng gốc khối lượng PAM120 có thể được sử dụng với giá trị bộ k bằng 2 chẳng hạn.

Phần trăm độ tương đồng giữa hai trình tự có thể được xác định bằng cách sử dụng các kỹ thuật tương tự với các kỹ thuật đã được mô tả ở trên, có

hoặc không cho phép có các khoảng trống. Trong tính toán phần trăm độ tương đồng, chỉ có các bắt cặp chính xác được đếm.

Biến thể của FVIII theo sáng chế có thể được làm khuyết miền B một phần hoặc hoàn toàn. Điều này có nghĩa là toàn bộ miền B được làm khuyết, hoặc một phần miền B được giữ lại trong biến thể của FVIII. Phần còn lại (được giữ lại) của miền B ví dụ được chọn từ 20, 15, 12, 10 hoặc 5 axit amin đầu tận N và 20, 15, 12, 10 hoặc 5 axit amin đầu tận C của miền B, được dung hợp trong khung với nhau.

Do đó, tốt hơn là, trong các biến thể của FVIII được làm khuyết miền B một phần theo sáng chế, phần đáng kể của miền B gồm khoảng 900 axit amin được loại bỏ. Theo các phương án của sáng chế, ít hơn 5% hoặc ít hơn 4% hoặc ít hơn 3% hoặc ít hơn 2 % hoặc ít hơn 1 % miền B vẫn còn có mặt trong các biến thể của FVIII.

Theo các phương án của sáng chế, phần còn lại của miền B được chọn từ trình tự gồm SEQ ID NO: 4 hoặc SEQ ID NO:5 hoặc SEQ ID NO: 6.

Theo phương án khác, sáng chế đề cập đến polynucleotit mã hóa polypeptit/protein như được mô tả ở trên. Polynucleotit có thể là phân tử ARN hoặc ADN mà trình tự nucleotit của nó chứa thông tin mã hóa đối với tế bào chủ về trình tự axit amin của biến thể theo sáng chế, theo mối liên hệ đã biết của mã di truyền.

Theo phương án khác, sáng chế đề cập đến vector biểu hiện chứa polynucleotit như được mô tả ở trên.

"Vector biểu hiện" là phân tử ADN, thường có cấu trúc vòng, có khả năng dễ sao chép tự trị trong tế bào chủ mong muốn, hoặc kết hợp vào hệ gen tế bào chủ và cũng có một số đặc điểm nhất định đã được biết rõ để cho phép biểu hiện ADN ghi mã đã được chèn vào trình tự vector ở vị trí thích hợp và theo hướng thích hợp. Các dấu hiệu này có thể bao gồm, nhưng không giới hạn ở, một hoặc nhiều trình tự gen khởi đầu để điều khiển sự bắt đầu phiên mã của ADN ghi mã và các phân tử ADN khác như gen tăng cường, vị trí polyadenyl hóa và các phân tử tương tự, tất cả đều đã được biết rõ trong lĩnh vực kỹ thuật

này. Thuật ngữ "vector biểu hiện" được sử dụng để biểu thị cả vector có trình tự mã hóa ADN cần được biểu hiện được cài xen vào trong trình tự của vector này, và vector có các yếu tố kiểm soát biểu hiện cần thiết được sắp xếp so với vị trí cài xen để cho nó có thể được sử dụng để biểu hiện ADN ghi mã bất kỳ đã được cài xen vào vị trí này, tất cả đều đã được biết rõ trong lĩnh vực kỹ thuật này. Do đó, ví dụ, vector không có gen khởi đầu có thể trở thành vector biểu hiện bằng cách cài xen gen khởi đầu đã được kết hợp với ADN ghi mã. Vector biểu hiện, như được sử dụng ở đây, cũng có thể là vector của virus.

Sự biểu hiện của các biến thể của FVIII tái tổ hợp theo sáng chế tốt hơn nếu được tiến hành trong giống cây tế bào động vật có vú.

Do đó, theo phương án khác, sáng chế đề cập đến tế bào động vật có vú chứa vector biểu hiện như được mô tả ở trên. Ví dụ, các tế bào CHO (Trứng chuột đồng Trung Quốc) và các tế bào BHK (tế bào thận chuột đồng nhỏ) là tế bào động vật có vú mà là tế bào chủ thích hợp theo sáng chế.

Theo khía cạnh khác của sáng chế, phương pháp sản xuất biến thể của FVIII theo sáng chế bao gồm các bước:

- a. nuôi cấy tế bào động vật có vú như được mô tả ở trên; và
- b. phân lập biến thể của FVIII từ tế bào động vật có vú này.

Theo một phương án, phương pháp này còn bao gồm bước:

- c. bào chế biến thể của yếu tố VIII cùng với tá dược thích hợp thành dược phẩm.

Tá dược thích hợp để sử dụng cho người hoặc động vật là, ví dụ, hợp chất làm ổn định, chất bảo quản, môi trường dẫn thuốc, và/hoặc vật truyền chất mang dùng trong dược phẩm. Một chế phẩm thích hợp cho sản phẩm yếu tố VIII được mô tả, chẳng hạn, trong WO 03/080108, tài liệu này được đưa vào bản mô tả này bằng cách viện dẫn.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề cập đến dược phẩm chứa biến thể của FVIII theo sáng chế.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề cập đến phương pháp điều trị bệnh nhân bị thiếu hụt yếu tố VIII bao gồm bước cho bệnh nhân cần được điều trị dùng lượng hữu hiệu có tác dụng trị liệu của biến thể của FVIII theo sáng chế, nhờ đó điều trị sự thiếu hụt yếu tố VIII ở bệnh nhân này.

Thuật ngữ "lượng hữu hiệu có tác dụng trị liệu" như được sử dụng ở đây, nghĩa là mức FVIII trong huyết tương của bệnh nhân bị thiếu hụt FVIII, người đã nhận được phẩm chứa biến thể của FVIII, đủ để thể hiện sự cải thiện hoặc tác dụng bảo vệ có thể xác định được ở bệnh nhân (ví dụ, để làm ngừng chảy máu). Các bệnh nhân bị thiếu hụt FVIII thường là các bệnh nhân bị bệnh ưa chảy máu A bẩm sinh nhưng cũng gồm các đối tượng được chẩn đoán với "bệnh ưa chảy máu mắc phải", một tình trạng bệnh trong đó những người không mắc chứng máu loãng khó đông bẩm sinh phát triển một cách tự phát các kháng thể ức chế đối với FVIII của họ, tạo ra sự thiếu hụt FVIII nghiêm trọng.

Sáng chế còn đề cập đến biến thể của FVIII theo sáng chế để sử dụng trong điều trị sự thiếu hụt yếu tố VIII.

Việc điều trị có thể ở dạng một lần sử dụng chế phẩm trong tĩnh mạch hoặc sử dụng theo chu kỳ hoặc liên tục trong khoảng thời gian kéo dài, khi cần. Tốt hơn là, việc sử dụng biến thể của FVIII là bằng đường dùng trong tĩnh mạch.

"Sự thiếu hụt yếu tố VIII," như được sử dụng ở đây, bao gồm sự thiếu hụt hoạt tính đông máu do sự sản xuất yếu tố VIII khiếm khuyết, sản xuất không đủ hoặc không sản xuất yếu tố VIII, hoặc sự ức chế một phần hoặc hoàn toàn của yếu tố VIII bởi chất ức chế gây ra. Bệnh ưa chảy máu A là loại thiếu hụt yếu tố VIII tạo ra từ khiếm khuyết trong gen được liên kết bởi X và sự vắng mặt hoặc thiếu hụt biến thể của yếu tố VIII mà nó mã hóa.

Biến thể của FVIII theo sáng chế được sử dụng để điều trị sự chảy máu không kiểm soát được do sự thiếu hụt yếu tố VIII (ví dụ, chảy máu trong khớp, trong sọ, hoặc dạ dày-ruột non) ở những người mắc chứng máu loãng khó đông.

Theo một phương án của sáng chế, sự thiếu hụt yếu tố VIII là bệnh ưa chảy máu A.

Theo phương án khác, sự thiếu hụt yếu tố VIII là bệnh ưa chảy máu mắc phải.

Theo một phương án, sự thiếu hụt yếu tố VIII được điều trị ở các bệnh nhân đã phát triển kháng thể FVIII ở người.

Như được đề cập ở trên, biến thể của FVIII theo sáng chế có hoạt tính riêng tăng. Do đó, có thể sử dụng lượng giảm của biến thể của FVIII để điều trị sự thiếu hụt VIII theo sáng chế. Lượng biến thể của FVIII có thể được làm giảm bởi ít nhất 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60% so với trị liệu bằng sản phẩm FVIII không chứa khuyết đoạn lên đến 27 axit amin theo sáng chế.

Việc làm giảm lượng trị liệu của biến thể của FVIII có ưu điểm là tính sinh miễn dịch được làm giảm bất ngờ, *tức là*, mong đợi rằng khả năng sản sinh kháng thể ức chế chống lại trị liệu thay thế FVIII ở bệnh nhân được làm giảm một cách đáng kể.

Theo một phương án, biến thể của yếu tố VIII theo sáng chế được sử dụng với lượng không nhiều hơn 200 µg/liều hoặc 150 µg/liều hoặc 145 µg/liều hoặc 140 µg/liều hoặc 136 µg/liều hoặc 130 µg/liều.

Mặc dù sáng chế đã được mô tả một cách đầy đủ, người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này sẽ hiểu rằng sáng chế có thể được thực hiện trong khoảng rộng các thông số, nồng độ và điều kiện tương đương mà không đi trệch khỏi phạm vi của sáng chế và không cần thực hiện các thử nghiệm không thích hợp.

Mặc dù sáng chế được mô tả về các phương án cụ thể, nhưng cần phải hiểu rằng có thể thực hiện các phương án cải biến khác nữa. Nhìn chung, sáng chế được dự định là bao gồm tất cả các phương án biến thể, ứng dụng hoặc chỉnh sửa dựa theo nguyên lý của sáng chế, và bao gồm cả các phương án đi lệch khỏi phần mô tả như theo thực tiễn đã biết hoặc thông lệ trong lĩnh vực kỹ thuật của sáng chế và như có thể được áp dụng với các dấu hiệu kỹ thuật cơ bản đã nêu ở trên trong phần mô tả và dưới đây trong các yêu cầu bảo hộ kèm theo.

Tất cả các tài liệu trích dẫn trong bản mô tả này, kể cả các bài báo tạp chí hoặc tóm tắt, đơn yêu cầu cấp patent Mỹ hoặc nước ngoài đã được công bố hoặc chưa được công bố, các patent Mỹ hoặc patent nước ngoài đã được cấp hoặc tài liệu trích dẫn bất kỳ khác, đều được đưa vào bản mô tả này bằng cách viện dẫn, kể cả tất cả các số liệu, bảng biểu, hình vẽ và phần mô tả có mặt trong các tài liệu trích dẫn này. Ngoài ra, toàn bộ nội dung của các tài liệu trích dẫn nêu trong bản mô tả này cũng được đưa vào bản mô tả này bằng cách viện dẫn.

Việc viện dẫn đến các bước phương pháp đã biết, các bước phương pháp thông thường, các phương pháp đã biết hoặc các phương pháp thông thường, theo cách bất kỳ, không phải là sự thừa nhận rằng khía cạnh, sự mô tả hoặc phương án bất kỳ của sáng chế đã được bộc lộ, giải thích hoặc đề xuất trong lĩnh vực có liên quan.

Phần mô tả trên đây về các phương án cụ thể vì vậy sẽ bộc lộ một cách đầy đủ bản chất chung của sáng chế mà những người khác, bằng cách áp dụng kiến thức hiểu biết trong lĩnh vực kỹ thuật này (kể cả nội dung của các tài liệu trích dẫn nêu trong bản mô tả này), sẽ dễ dàng cải biến và/hoặc làm thích ứng đối với các ứng dụng khác nhau của các phương án cụ thể này, mà không cần thực hiện các thử nghiệm không thích hợp, và không đi trệch khỏi phạm vi của sáng chế. Do đó, các thích ứng và cải biến này được dự định là thuộc khoảng các phương án tương đương của các phương án đã được bộc lộ, dựa trên phần giải thích và hướng dẫn nêu trong bản mô tả này. Cần phải hiểu rằng cách viết hoặc các thuật ngữ trong bản mô tả này là cho mục đích mô tả và không nhằm mục đích giới hạn, để cho các thuật ngữ hoặc cách viết của bản mô tả sáng chế này được hiểu bởi các người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này dưới phần giảng giải và hướng dẫn nêu trong bản mô tả này, kết hợp với kiến thức hiểu biết của người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Ví dụ 1: Sự biểu hiện của FVIII tái tổ hợp ở lợn được làm khuyết miền B một phần (OBI-1) và phân lập ba protein biến thể (rpVIIIv1, v2 và v3)

Sự biểu hiện của OBI-1 ở các tế bào BHK được tiến hành về cơ bản như được mô tả trong US 6,458,563. Ba biến thể được phát hiện trong vật liệu đã được tạo ra (rpVIIIv1, v2 và v3). Các biến thể này được phân lập và được tinh chế đến độ tinh khiết >95% trên sắc ký trao đổi ion. Để tinh chế, hệ AKTA Explorer (AKTA Explorer 10, GE Healthcare Lifesciences # 17-5167-01) sử dụng cột trao đổi anion bán điều chế MonoQ HR10/10 (bây giờ là Mono Q 10/100 GL, GE Healthcare Lifesciences # 17-5167-01) được sử dụng. Sự rửa giải được tiến hành dựa trên gradien với hai đệm sau:

Đệm A: 10 mM TRIS, pH 7,0, 0,01% Polysorbat 80

Đệm B: Đệm A và natri clorua nồng độ 1 M.

Các đặc điểm của phương pháp tinh chế được tóm tắt trong Bảng 1.

Bảng 1: Phương pháp tinh chế biến thể rpFVIII

Phương pháp AKTA:	LoopMQ1010	
Dòng:	4 ml/phút	
Cột cân bằng	8 CV	
Dòng nạp	4ml/phút	
Thể tích mẫu	40 - 1000 ml	
Cột rửa	10CV	
Gradien	Thể tích cột (CV)	%B
	7	45
	4	50
	4	50
	6	52
	4	52
	2	55
	7	60
	1	65
	5	65
	1	70
	5	70
	1	100
	7	100
	1	10
	4	10
Chu trình tổng cộng	59 CV	
Nhiệt độ cột	Không được kiểm soát	

Ví dụ 2: Biến thể 3 (rpFVIIIv3) có hoạt tính riêng cao hơn một cách đáng kể so với biến thể 1 và 2

Hoạt tính riêng của mỗi biến thể được đánh giá bằng cách chia công hiệu được đánh giá bởi thử nghiệm đông máu một giai đoạn (OSCA) cho nồng độ protein như được xác định bởi SEC HPLC cho mỗi phương pháp. Các phương pháp OSCA và SEC HPLC được tiến hành như được mô tả trong Ví dụ 5 “Nguyên liệu và phương pháp”.

Các kết quả

Kết quả về hoạt tính riêng được biểu thị trong Bảng 2.

Bảng 2: Hoạt tính riêng (Phương pháp OSCA) đối với các biến thể đã được tinh chế 1, 2 và 3 thu được từ hai lô rpFVIII khác nhau

Mẫu dựa trên SEC	Đơn vị OSCA /ml	%RSD*	Đơn vị hoạt tính riêng/ml	%RSD*
V1 – lô 1	1060	1,5	11956	1,7
V2 – lô 1	715	2,7	17267	3,3
V3 – lô 1	216	1,2	25926	2,8
OBI-1	513	1	18150	1,3
V1 – lô 2	980	1,2	12532	1,5
V2 – lô 2	613	0,6	16089	1,3
V3 – lô 2	280	2,9	19718	4,1
OBI-1	565	4,0	14427	4,4

*độ lệch chuẩn tương đối

Quan sát thấy hoạt tính riêng cao hơn một cách đáng kể đối với biến thể 3 trong thử nghiệm OSCA là rõ rệt và thống nhất. Vì phương pháp OSCA là có tính tiên đoán và đại diện cho quá trình đông máu ở người, mong đợi rằng biến thể 3 là sản phẩm có giá trị đáng kể. Mong đợi rằng sự tăng công hiệu gấp 1,5-2,0 lần sẽ làm giảm lượng FVIII được sử dụng cho các bệnh nhân và do đó có thể gián tiếp làm giảm sự xuất hiện của các tác dụng phụ miễn dịch.

Ví dụ 3: Xác định trình tự của rpFVIIIv3

Trình tự của v3 đã được tinh chế được xác định bằng bản đồ peptit sau đó là LCMS (phép đo khối phổ sắc ký lỏng) và LCMS/MS (phép đo khối phổ

sắc ký lỏng/phép đo khối phổ) trên khối phổ kế Q-TOF Ultima, chạy MassLynx 4.0 (Waters Corporation, Milford, MA).

Khoảng 250 µg Bién thể 3 được cô bằng cách sử dụng thiết bị cô Amicon, Centricon YM-10 với bộ lọc 10.000 MWCO (Millipore Corporation, Billerica, MA) đến thể tích bằng < 100 µL. Các mẫu được trộn với 450 µL 6 M guanidin HCl/ 0,002 M EDTA (axit etylendiamintetraaxetic) /0,02 M đệm Tris pH 8 và được chuyển vào ống polypropylen dung tích 2,0 mL. 1 M DTT (dithiothreitol) được bổ sung vào mỗi mẫu đến nồng độ cuối cùng bằng 10 mM và được ủ trong 1 giờ ở nhiệt độ 37°C. Sau khi khử, 2 M iodoacetamid được bổ sung vào mỗi ống đến nồng độ cuối cùng bằng 20 mM và được ủ trong một giờ nữa ở nhiệt độ trong phòng. Các mẫu đã được khử và alkyl hóa được chuyển vào catxét thẩm tách và được thẩm tách trong 1 giờ đối với 1 L đệm thẩm tách 50 mM amoni bicacbonat chứa 1,0 M ure, pH 8. Sau đó, các mẫu được thẩm tách đối với 1 L đệm thẩm tách qua đệm ở nhiệt độ trong phòng trong khi duy trì khuấy không đổi. Sau khi thẩm tách, thể tích cuối cùng là khoảng 0,5 mL mỗi mẫu. Các mẫu được chia thành hai lượng nhỏ 125 µg.

Sau khi thẩm tách, mẫu protein được chứa trong nền tối ưu cho sự tiêu hóa phân giải protein bằng trypsin. Trypsin được bổ sung vào mỗi mẫu ở tỷ lệ enzym so với cơ chất bằng 1:20 (khối lượng: khối lượng) và được ủ trong 8 giờ ở nhiệt độ 37°C. Tất cả các mẫu được chuyển vào các lọ HPLC và được phân tích bởi HPLC-MS.

Protein đã được khử và alkyl hóa được bơm lên trên cột pha đảo Vydac C18 (Grace, Deerfield, IL). Trước khi bơm mẫu, mẫu trống (Pha động A; nước khử ion chứa 0,2% (thể tích: thể tích) axit formic) được phân tích để làm cân bằng cột và chứng tỏ sự vắng mặt của các đỉnh nhiễu.

Số liệu của phép đo khối phổ được thu gom trên khối phổ kế Q-TOF API-US hoặc khối phổ kế Q-TOF Ultima (Waters Corporation, Milford, MA) sử dụng ion hóa phun điện (ESI) theo kiểu ion dương. Trước khi phân tích mẫu, khối phổ kế được hiệu chuẩn bằng cách sử dụng sự phù hợp bậc 5 trên các ion mảnh của peptit Glu-Fibrinogen bao hàm khoảng 175 đến 1285 m/z. Đối với sự hiệu chuẩn để đáp ứng yêu cầu kỹ thuật, độ sai lệch RMS (căn quân

phương) đối với khối lượng của các mảnh peptit cần phải ít hơn 5 ppm. Gói phần mềm Masslynx 4.0™ SP2 và SP4 (Waters Corporation, Milford, MA) được sử dụng để thu nhận và phân tích số liệu.

Cả số liệu MS và MS/MS đều được thu gom bằng cách sử dụng chu trình sắc ký lỏng (LC) đơn. Các lần quét khảo sát khối phổ kế (MS) đầy đủ được thu gom từ 200-1950 m/z.

Trình tự của rpFVIII được xác định là tương ứng với SEQ ID NO: 1. Trình tự này chứa khuyết đoạn 27 axit amin so với trình tự OBI-1.

Ví dụ 4: rpFVIIIv3 có hoạt tính riêng cao hơn so với các sản phẩm FVIII đã biết khác

Hoạt tính riêng của rpFVIIIv3 được so với ba sản phẩm FVIII có sẵn trên thị trường, cụ thể là Xynthia® (FVIII tái tổ hợp, được làm khuyết miền B ở người từ Wyeth Pharmaceuticals (Philadelphia, PA)), Kogenate FS® (FVIII chiều dài đầy đủ ở người từ Bayer Healthcare (Tarrytown, NY)) và Advate® (FVIII chiều dài đầy đủ ở người từ Baxter (Westlake Village, CA)), cũng như so với OBI-1 (FVIII ở lợn được làm khuyết miền B một phần tái tổ hợp), mà hiện đang trong quá trình nghiên cứu lâm sàng, và yếu tố VIII ở chó được làm khuyết miền B (Denise E. Sabatino *et.al.*, Recombinant canine B-domain-deleted FVIII exhibits high specific activity and is safe in the canine hemophilia A model, Blood, 12 November 2009, Vol. 114, No. 20, pp. 4562-4565).

Hoạt tính riêng của OBI-1 và rpFVIIIv3 được xác định bởi các phương pháp như được mô tả trong Ví dụ 5.

Các kết quả được mô tả trong Bảng 3 và Fig. 1. Do hoạt tính riêng tăng, nên lượng prFVIIIv3 thấp hơn cho mỗi liều có thể được sử dụng cho bệnh nhân. Mong đợi rằng sự giảm liều lượng này sẽ dẫn đến tính sinh miễn dịch giảm, tức là, xác suất mà bệnh nhân phát triển kháng thể ức chế sẽ thấp hơn.

Bảng 3: Hoạt tính riêng của sản phẩm FVIII so với rpVIIIv3

	Hoạt tính riêng tính bằng IU/mg Protein	Lượng protein µg/liều [^]
Xynthia	7500	400
Kogenate FS	4000	750
Advate	4000	750
OBI-1	11000	273
rpVIIIv3	22000	136
FVIII BDD* ở chó	34000	88

[^]Lượng Protein = xxxx µg/liều. Các con số được thể hiện trong cột đối với rpVIII3 có nghĩa là lượng 136 µg cho mỗi liều sẽ được yêu cầu. Một liều là lượng được yêu cầu để làm tăng mức yếu tố VIII trong máu từ 0% đến 100%, tức là hoạt tính riêng (XXX đơn vị/mg) càng cao, lượng yêu cầu (tính bằng µg) càng ít hơn. Lưu ý rằng 1 mg = 1000µg. Giả sử rằng liều tiêu biểu là 3000 đơn vị cho mỗi bệnh nhân, lượng protein thực sự được yêu cầu = $3000/22000 = 0,136 \text{ mg} = 136 \text{ µg}$.

*BDD là chữ viết tắt của cụm từ “được làm khuyết miền B” và FL là chữ viết tắt của cụm từ “chiều dài đầy đủ”

Kết luận là, các kết quả này cho thấy rằng rpVIIIv3 có hoạt tính riêng cao hơn một cách đáng kể so với các sản phẩm đã được thử nghiệm hiện có sẵn trên thị trường, hoặc đang trong quá trình nghiên cứu lâm sàng, đối với trị liệu thay thế FVIII.

Cụ thể, đáng ngạc nhiên là khuyết đoạn 27 axit amin, có mặt trong rpVIIIv3 nhưng không có mặt trong OBI-1, làm tăng 50% hoạt tính riêng (như được xác định bởi thử nghiệm OSCA).

Ví dụ 5: Nguyên liệu và phương pháp

THỬ NGHIỆM ĐÔNG MÁU MỘT GIAI ĐOẠN - OSCA – PHƯƠNG PHÁP

1. Pha loãng mẫu chuẩn tham chiếu trong đệm thử nghiệm (huyết thanh thiếu hụt 10% yếu tố VIII + Đệm veronan của Owren, cho mỗi lít, 28

mmol natri barbital và 125 mmol NaCl, pH 7,35) đến công hiệu đích là 1,0 đơn vị/mL.

2. Pha loãng mẫu chuẩn kiểm tra, mẫu đối chứng hoạt tính và các mẫu trong đệm thử nghiệm đến công hiệu đích.

3. Nạp mẫu chuẩn hiệu chuẩn (tham chiếu) và chất phản ứng vào các lỗ thích hợp bên trong thiết bị Sysmex. (Sysmex CA-1500, Coagulation Analyzer, Dade Behring # B4260-1500 (Siemens Corporation, Deerfield, IL)).

4. Nạp mẫu chuẩn kiểm tra, mẫu đối chứng và các mẫu vào các giá bên ngoài thiết bị Sysmex.

5. Trình tự thử nghiệm diễn ra tự động bên trong thiết bị này như sau:

a. 5 uL mẫu được pha loãng vào 45 ul đệm thử nghiệm bên trong ống phản ứng

b. 50ul huyết tương thiếu hụt yếu tố VIII được bổ sung vào ống phản ứng

c. 50ul chất phản ứng theo thời gian thromboplastin một phần được hoạt hóa Dade Actin FS (phosphatid đậm tương đã được tinh chế trong thiết bị hoạt hóa axit $1,0 \times 10^{-4}M$ Ellagic, Dade Behring, Liederbach, Đức) được bổ sung vào ống phản ứng và được ủ trong 60 giây.

d. 50ul canxi clorua (0,025M, Dade Behring, Liederbach, Đức) được bổ sung vào ống phản ứng và được ủ trong 240 giây.

e. Thời gian đông được xác định lên đến thời gian tối đa là 300 giây.

6. Sau đó, thời gian đông được làm tương quan với công hiệu đã được tạo ra bởi đường chuẩn của mẫu chuẩn tham chiếu.

PHƯƠNG PHÁP HPLC LOẠI TRỪ THEO KÍCH CỠ (SEC)

Hệ Agilent 1100 (Agilent Technologies, Santa Clara, CA) hoặc hệ Waters Bioalliance HPLC (Waters Corporation, Milford, MA) đã và thường

được sử dụng cho phương pháp loại trừ theo kích cỡ để xác định nồng độ protein. Cột loại trừ kích cỡ tiêu biểu được sử dụng là Superdex 200 từ GE (Superdex 200 10.300 GL, 10 X 300mm, Cat # 17-5175-01 (GE Healthcare Lifesciences, Piscataway, NJ)). Protocol thử nghiệm chung là như sau:

1. Pha động tiêu biểu được điều chế, chứa 400mM NaCl với 20mM TRIS, pH 7,4 và 0,01% polysorbat 80.
2. Pha động này được chạy qua hệ và cột HPLC cho đến khi quan sát thấy trạng thái cân bằng của đường cơ sở.
3. Các mẫu chuẩn được chạy để thiết lập độ thích hợp của hệ với thời gian chạy tiêu biểu bằng 30 phút đối với mỗi mẫu.
4. Các mẫu tiêu biểu được nạp lên trên thiết bị lấy mẫu tự động với nhiệt độ ngăn đối chứng bằng 4°C.
5. Mẫu chuẩn hiệu chuẩn có các nồng độ đã biết chứa các lượng khác nhau của các mẫu chuẩn, thường từ 1, 3, 5, 10 và 25 µg protein được nạp lên trên cột với các thể tích nằm trong khoảng từ 10 đến 50 µl.
6. Các mẫu có nồng độ chưa biết cũng được nạp vào cột, thường với các thể tích nằm trong khoảng từ 30 đến 50 µl.
7. Hệ HPLC được lập trình để chạy mẫu tự động theo trình tự đã được thiết lập.
8. Diện tích đỉnh của các chuẩn hiệu chỉnh và các mẫu chưa biết được xác định dựa trên sự phát hiện bằng huỳnh quang với bước sóng kích thích và phát xạ lần lượt ở 280nm và 340nm.
9. Sự hồi quy tuyến tính của các chuẩn hiệu chỉnh được tạo ra và nồng độ của mẫu chưa biết được xác định so với đường chuẩn này.

Ví dụ tiêu biểu về profin SEC của các chuẩn hiệu chỉnh và sự hồi quy tuyến tính của đường chuẩn được thể hiện trên Fig. 3.

Ví dụ 6: Sự liên kết với yếu tố von Willebrand

Yếu tố von Willebrand (vWF) là glycoprotein đa chức tuần hoàn trong huyết tương dưới dạng dạng multimer được tạo phức với yếu tố VIII (phức hợp FVIII/vWF). Phức hợp FVIII/vWF đóng vai trò bảo vệ FVIII đã được liên kết khỏi sự phân giải protein sớm trong vòng tuần hoàn *in vivo*.

Sắc ký loại trừ theo kích cỡ (SEC) được sử dụng để xác định đặc điểm sự liên kết trong phức hợp FVIII/vWF. Cột Superose 6 (Superose 6 10/300GL, GE Healthcare #17-5172-01, tốc độ dòng = 0,5 mL/phút) được chọn do có độ tương thích sinh học đã biết và giới hạn loại trừ cao, bằng 40 triệu Dalton (Đệm chế phẩm pha động: 2 mM CaCl₂, 10 mM Tris pH 7,0, 300 mM NaCl, 0,01% PSB-80, 11 mM sucroza, 10 mM trinati xitrat). Sự khác nhau về khối lượng phân tử giữa yếu tố von Willebrand (dimeric @ ~ 500KD, Fitzgerald Cat# 30C-CP4003U, Lot # A09121050, Monomer Mol. Wt = ~260kD, Conc. = 77 µg/mL) và rpFVIII (~ 160 KD) là đủ để tách hai loại.

Hệ số tỷ lệ của liên kết được xác định bằng cách chuẩn độ lượng không đổi của vWF với lượng tăng dần của rpFVIII. Profin của sự tạo thành phức chất giữa rpFVIII và vWF được xác định từ sắc ký đồ SEC và sự tích phân của các đỉnh thích hợp. Dạng hòa tan của hỗn hợp thu được trong dịch nổi bề mặt được sử dụng để xác định điểm cuối của sự tạo phức từ sự chuẩn độ với lượng tăng dần của rpFVIII. Phức hợp ổn định, lớn hơn tạo thành giữa rpFVIII và vWF dịch chuyển từ thời gian lưu bình thường đến giới hạn loại trừ của cột. Khi sự bão hòa xảy ra, lượng tăng dần của rpFVIII chưa được liên kết sẽ được quan sát trong sắc ký đồ SEC. Phương pháp này được sử dụng để phân biệt độ khác biệt và độ tương tự về tính chất của các biến thể.

Ví dụ 7: Động học của sự tiêu hủy thrombin

SDS-PAGE

Các phân tử yếu tố VIII tái tổ hợp ở lợn (rpFVIII) là các heterodime khoảng 160kD chứa chuỗi nhẹ có khối lượng phân tử bằng 78,5kD (A3-C1-C2, 765-1448) và chuỗi nặng có khối lượng phân tử bằng 86,7kD (A1-A2). Chuỗi nặng của rpFVIII là không đồng nhất và bao gồm ba biến thể chính được tạo

thành trong quá trình tiết từ tế bào và có thể được phân cắt bởi các proteaza được liên kết màng của họ subtilisin được ký hiệu là PACE (Paired Basic Amino Acid Cleavage Enzyme).

Giống như yếu tố VIII ở người, rpFVIII được biến đổi thành dạng có hoạt tính bởi sự phân giải protein hạn chế từ thrombin. Sự hoạt hóa thrombin của rpFVIII là đặc hiệu đối với vị trí phân cắt của chuỗi nặng ở Arg(372)-Ser(373). Vùng phân cắt đối với Chuỗi nhẹ ở Arg(805)-Ser(806) giải phóng phân đoạn peptit nhỏ gồm 40 axit amin có khối lượng phân tử nằm trong khoảng 765-804 (~4,4kD). Sự kết hợp của các phân cắt ban đầu này bởi thrombin tạo thành yếu tố VIII tái tổ hợp ở lợn đã được hoạt hóa dưới dạng heterotrimer của các cấu trúc siêu phân tử được ký hiệu là A1 (~50kD), A2 (~40kD), và A3-C1-C2 (~70kD). Các cấu trúc siêu phân tử rpFVIII A1 và A3-C1-C2 đã được phân cắt giữ được liên kết phụ thuộc ion hóa trị hai, trong khi đó cấu trúc siêu phân tử A2 được liên kết yếu với A1-A3-C1-C2 dime bởi các tương tác chủ yếu là tĩnh điện. Trong SDS-PAGE, các cấu trúc siêu phân tử này được thể hiện dưới dạng ba băng riêng biệt. Hiệu quả biến đổi rpFVIII (2 đơn vị peptit) thành ba đơn vị peptit là đặc trưng của sự hoạt hóa thrombin của sản phẩm. Phương pháp này phân biệt sự tương tự và sự khác nhau giữa các biến thể riêng rẽ.

Hai phương pháp trực giao khác có thể được sử dụng và đã được sử dụng để vẽ bản đồ động lực học của sự tiêu hủy thrombin của FVIII. HPLC pha đảo biến tính có thể được sử dụng; các profin đỉnh được mong đợi là tương tự với các profin đỉnh của SDS-PAGE. Sắc ký trao đổi aion, mà giữ được dạng nguyên thủy của các peptit này, cũng có thể được sử dụng.

HPLC pha đảo

Thiết bị:

1. HPLC 1100 series: Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA; Model No. 61312A, Serial No. DE10907753.
2. Poroshell 5um cột 2,1X75mm: Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA; Part No. 660750-909, Serial No. USVV001988.

Chất phản ứng:

1. Đệm A: 0,1% TFA (JT B Baker, Phillisburg, NJ; Cat No. 94700-00, Lot No. J23J00) trong nước

2. Đệm B: 0,1% TFA trong Axetonitril (JT Baker, Phillisburg, NJ; Cat No. 9017-03, Lot No. J38807).

Quy trình:

1. Làm cân bằng cột trong 60 phút sử dụng 99%A và 1%B ở tốc độ dòng bằng 1ml/phút.

2. Các dung dịch bơm mẫu có thể tích bằng 50 μ l; 25 μ l mẫu chuẩn tham chiếu được sử dụng làm đối chứng.

3. Ví dụ về phương pháp được sử dụng để chạy mẫu được thể hiện trong Bảng 4.

Bảng 4:

Dung dịch bơm mẫu	Thời gian (phút)	Dòng (ml/phút)	%A	%B
1	0,00	2	99	1
2	2,00	2	99	1
3	3,00	2	64	36
4	3,50	2	64	36
5	4,00	2	61	39
6	5,00	2	61	39
7	5,10	2	58	42
8	6,50	2	58	42
9	6,51	2	56	44
10	7,20	2	56	44
11	7,21	2	40	60
12	8,50	2	40	60
13	8,51	2	10	90
14	9,00	2	10	90
15	9,10	2	99	1
16	10,00	2	99	1

Sắc ký trao đổi anion

Thiết bị:

1. AllianceBio HPLC, Waters corporation, Milford, MA, USA; Model No. 2796; Serial No M08BA1199M.

2. Protein Pak Hi Res Q 5um cột 4,6X100mm: Waters Corporation, Milford, MA, USA; Part No. 186004931, Serial No. 502N112561VE04.

Chất phản ứng:

Đệm A:

10mM đệm Tris (1,211g/L)

2mM canxi clorua (0,588g/L)

0,01% polysorbat 80 (1ml của 10% PS-80/L)

Nước lọc bổ sung đến 1L, pH 7,0

Đệm B:

10mM đệm Tris (1,211g/L)

2mM canxi clorua (0,588g/L)

0,01% polysorbat 80 (1ml của 10% PS-80/L)

1M natri clorua (58,44g/L)

Nước lọc bổ sung đến 1L, pH 7,0

Quy trình:

1. Làm cân bằng cột trong 60 phút sử dụng 70%A và 30%B ở tốc độ dòng bằng 0,5ml/phút

2. Các dung dịch bơm mẫu có thể tích bằng 50µl; 10 µl mẫu chuẩn tham chiếu được sử dụng làm đối chứng.

3. Ví dụ về phương pháp được sử dụng để chạy mẫu được thể hiện trong Bảng 5.

Bảng 5:

Dung dịch bơm mẫu	Thời gian (phút)	Dòng (ml/phút)	%A	%B
1	0,01	0,5	70	30
2	0,50	0,5	70	30
3	3,50	0,5	60	40
4	5,00	0,5	60	40
5	10,00	0,5	30	70
6	10,10	0,5	1	99
7	12,00	0,5	1	99
8	12,10	0,5	70	30
9	17,00	0,5	70	30

Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này sẽ biết và hiểu rằng các phương pháp này và các phương pháp khác có thể được sử dụng để hiểu rõ về các protein yếu tố VIII tái tổ hợp như được mô tả trong bản mô tả này.

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Biến thể của yếu tố VIII (FVIII) được làm khuyết miền B hoàn toàn hoặc một phần, tái tổ hợp và được phân lập, chứa trình tự có độ tương đồng ít nhất 90% với SEQ ID NO: 1 và không có trình tự axit amin tương ứng với axit amin từ 716 đến 742 của yếu tố VIII ở lợn như được mô tả trên Fig. 2 hoặc axit amin từ 714 đến 740 của SEQ ID NO: 7.
2. Biến thể của FVIII theo điểm 1, trong đó biến thể này chứa trình tự có độ tương đồng ít nhất 95%, ít nhất 96%, ít nhất 97%, ít nhất 98%, ít nhất 99%, ít nhất 99,5%, ít nhất 99,6%, ít nhất 99,7%, ít nhất 99,8% hoặc ít nhất 99,9% với SEQ ID NO:1, biến thể này không có trình tự axit amin tương ứng với axit amin từ 716 đến 742 của yếu tố VIII ở lợn như được mô tả trên Fig. 2 hoặc axit amin từ 714 đến 740 của SEQ ID NO: 7.
3. Biến thể của FVIII theo điểm 2, trong đó biến thể này là SEQ ID NO:1.
4. Biến thể của FVIII theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 3, trong đó biến thể của FVIII này được làm khuyết miền B một phần và phần còn lại của miền B là SEQ ID NO: 4.
5. Polynucleotit mã hóa polypeptit theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 4.
6. Vector biểu hiện chứa polynucleotit theo điểm 5.
7. Tế bào động vật có vú chứa vector biểu hiện theo điểm 6.
8. Phương pháp sản xuất biến thể của FVIII, bao gồm các bước:
 - a. nuôi cấy tế bào động vật có vú theo điểm 7; và
 - b. phân lập biến thể của FVIII từ tế bào động vật có vú này; và, tùy ý,
 - c. bào chế biến thể của yếu tố VIII cùng với tá dược thích hợp thành dược phẩm.
9. Dược phẩm chứa biến thể của yếu tố VIII theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 4.

1/7

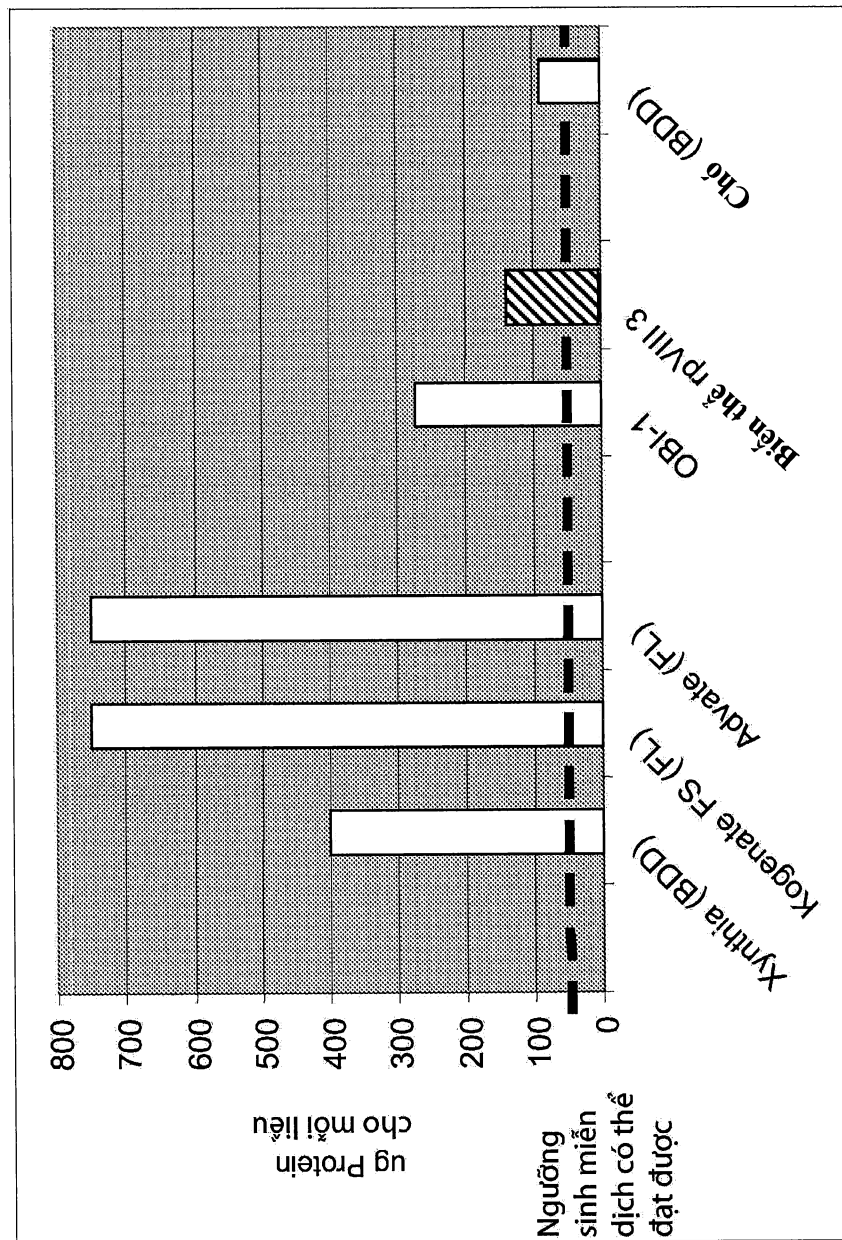


Fig. 1

2/7

	1		50
HUMFVIII	ATRRYYLGAV	ELSWDYMQSD	.LGELPVDAR FPPRVPKSFP FNTSVVYKKT
PIGFVIII	AIRRYYLGA	ELSWDYRQSE	LLRELHVDTR FPATAPGALP LGPSVLYKKT
MURFVIII	AIRRYYLGA	ELSWNYIQSD	LLSVLHTDSR FLPRMSTSFP FNTSIMYKKT
CANFVIII	ATRKYYLGAV	ELSWDYMQSD	LLSALHADTS FSSRVPGSLP LTTSVITYRKT
	51		100
HUMFVIII	LFVEFTDHLF	NIAKPRPPWM	GLLGPTIQAE VYDTVVITLK NMASHPVSLH
PIGFVIII	VFVEFTDQLF	SVARPRPPWM	GLLGPTIQAE VYDTVVVITLK NMASHPVSLH
MURFVIII	VFVEYKQDLF	NIAKPRPPWM	GLLGPTIWTE VHDTVVITLK NMASHPVSLH
CANFVIII	VFVEFTDDL	NIAKPRPPWM	GLLGPTIQAE VYDTVIVILK NMASHPVSLH
	101		150
HUMFVIII	AVGVSYWKAS	EGAIEDDQTS	QREKEDDKVF PGGSHTYVWQ VLKENGPMAS
PIGFVIII	AVGVSFWKSS	EGAIEDDHTS	QREKEDDKVL PGKSQTYVWQ VLKENGPTAS
MURFVIII	AVGVSYWKAS	EGDEYEDQTS	QMEKEDDKVF PGESHTYVWQ VLKENGPMAS
CANFVIII	AVGVSYWKAS	EGAIEDDQTS	QKEKEDDNVI PGESHTYVWQ VLKENGPMAS
	151		200
HUMFVIII	DPLCLTYSYL	SHVDLVKDLN	SGLIGALLVC REGSLAKEKT QTLHKFILLF
PIGFVIII	DPPCLTYSYL	SHVDLVKDLN	SGLIGALLVC REGSLTRERT QNLHEFVLLF
MURFVIII	DPPCLTYSYM	SHVDLVKDLN	SGLIGALLVC KEGSLSKERT QMLYQFVLLF
CANFVIII	DPPCLTYSYF	SHVDLVKDLN	SGLIGALLVC KEGSLAKERT QTLQEFVLLF
	201		250
HUMFVIII	AVFDEGKSWH	SETKNSLMQD	RDAASARAWP KMHTVNGYVN RSLPGLIGCH
PIGFVIII	AVFDEGKSWH	SARNDSWTRA	MDPAPARAQP AMHTVNGYVN RSLPGLIGCH
MURFVIII	AVFDEGKSWH	SETNDSYTQS	MDSASARDWP KMHTVNGYVN RSLPGLIGCH
CANFVIII	AVFDEGKSWH	SETNASLTQ.	AEAQH ELHTINGYVN RSLPGLTVCH
	251		300
HUMFVIII	RKSVYWHVIG	MGTTPPEVHSI	FLEGHTFLVR NHRQASLEIS PITFLTAQTL
PIGFVIII	KKSVYWHVIG	MGTSPEVHSI	FLEGHTFLVR HHRQASLEIS PLTFLTAQTF
MURFVIII	RKSVYWHVIG	MGTTPPEIHSI	FLEGHTFFVR NHRQASLEIS PITFLTAQTL
CANFVIII	KRVSYWHVIG	MGTTPPEVHSI	FLEGHTFLVR NHRQASLEIS PITFLTAQTF
	301		350
HUMFVIII	LMDLGQFLLF	CHISSHQHDG	MEAYVKVDSC PEEPQLRMK. NNEEAEDYDD
PIGFVIII	LMDLGQFLLF	CHISSHHHGG	MEAHVRVESC AEPPQLRRK. ADEE.EDYDD
MURFVIII	LIDLQGFLLF	CHISSHKHDG	MEAYVKVDSC PEESQWQKKN NNEEMEDYDD
CANFVIII	LMDLGQFLLF	CHIPSHQHDG	MEAYVKVDSC PEEPQLRMK. NNED.KDYDD
	351		400
HUMFVIII	DLTDSEMDVV	RFDDDNSPSF	IQIRSVAKKH PKTWVHYIAA EEEDWDYAPL
PIGFVIII	NLYDSMDVV	RLDGDDVSPF	IQIRSVAKKH PKTWVHYISA EEEDWDYAPA
MURFVIII	DLY.SEMDMF	TLDYD.SSPF	IQIRSVAKKY PKTWIHYISA EEEDWDYAPS
CANFVIII	GLYDSMDVV	SFDDSSSPF	IQIRSVAKKH PKTWVHYIAA EEEDWDYAPS
	401		450
HUMFVIII	VLAPDDRSYK	SQYLNNGPQR	IGRKYKKVRF MAYTDETFKT REAIQHESGI
PIGFVIII	VPSPSDRSYK	SLYLNSGPFQR	IGRKYKKARF VAYTDVTFKT RKAIPYESGI
MURFVIII	VPTSDNGSYK	SQYLSNGPHR	IGRKYKKVRF IAYTDETFKT RETIQHESGL
CANFVIII	GPTPNDRSHK	NLYLNNGPQR	IGKYYKKVRF VAYTDETFKT REAIQYESGI
	451		500
HUMFVIII	LGPLLYGEVG	DTLLIIFKNQ	ASRPYNIYPH GITDVRPLYS RRLPKGVKHL
PIGFVIII	LGPLLYGEVG	DTLLIIFKNK	ASRPYNIYPH GITDVSALHP GRLLKGWKHL
MURFVIII	LGPLLYGEVG	DTLLIIFKNQ	ASRPYNIYPH GITDVSPLHA RRLPRGIKHV
CANFVIII	LGPLLYGEVG	DTLLIIFKNQ	ASRPYNIYPH GINYVTPLHT GRLLPKGVKHL
	501		550

Fig. 2a

3/7

HUMFVIII	KDFPILPGEI	FKYKWTVTVE	DGPTKSDPRC	LTRYSSSFVN	MERDLASGLI
PIGFVIII	KDMPILPGET	FKYKWTVTVE	DGPTKSDPRC	LTRYSSSSIN	LEKDLASGLI
MURFVIII	KDLPIHPGEI	FKYKWTVTVE	DGPTKSDPRC	LTRYSSSFVN	PERDLASGLI
CANFVIII	KDMPILPGEI	FKYKWTVTVE	DGPTKSDPRC	LTRYSSSFVN	LERDLASGLI
	551				600
HUMFVIII	GPLLICYKES	VDQRGNQIMS	DKRNVILFSV	FDENRSWYLT	ENIQRFPLNP
PIGFVIII	GPLLICYKES	VDQRGNQMMS	DKRNVILFSV	FDENQSWYLA	ENIQRFPLNP
MURFVIII	GPLLICYKES	VDQRGNQMMS	DKRNVILFSI	FDENQSWYIT	ENMQRFPLNA
CANFVIII	GPLLICYKES	VDQRGNQMMS	DKRNVILFSV	FDENRSWYLT	ENMQRFPLNA
	601				650
HUMFVIII	AGVQLEDPEF	QASNIMHSIN	GYVFDSLQLS	VCLHEVAYWY	ILSIGAQTFD
PIGFVIII	DGLQPQDPEF	QASNIMHSIN	GYVFDSLQLS	VCLHEVAYWY	ILSVGAQTFD
MURFVIII	AKTQPQDPGF	QASNIMHSIN	GYVFDSLQELT	VCLHEVAYWH	ILSVGAQTFD
CANFVIII	DVVQPHDPEF	QLSNIMHSIN	GYVFDNLQLS	VCLHEVAYWY	ILSVGAQTFD
	651				700
HUMFVIII	LSVFFSGYTF	KHKMVYEDTL	TLFPFSGETV	FMSMENPGLW	ILGCHNSDFR
PIGFVIII	LSVFFSGYTF	KHKMVYEDTL	TLFPFSGETV	FMSMENPGLW	VLGCHNSDLR
MURFVIII	LSIFFSGYTF	KHKMVYEDTL	TLFPFSGETV	FMSMENPGLW	VLGCHNSDFR
CANFVIII	LSVFFSGYTF	KHKMVYEDTL	TLFPFSGETV	FMSMENPGLW	VLGCHNSDFR
	701				750
HUMFVIII	NRGMTALLKV	SSCDK	<u>NTGDY YEDSYEDISA YLLSKNNAIE PR</u>	<u>STSQNSRH</u>	
PIGFVIII	NRGMTALLKV	YSCDR	<u>DIGDY YDNTYEDIPG FLLSGKNVIE PR</u>	<u>SEAQNSRH</u>	
MURFVIII	NRGMTALLKV	SSCDK	<u>STSDY YEEIYEDIPT OLVNENNVID PR</u>	<u>STFQNTNH</u>	
CANFVIII	NRGMTALLKV	SSCNR	<u>NIDDY YEDTYEDIPT PLLNENNVIK PR</u>	<u>STSQNSRH</u>	
	751				800
HUMFVIII	<u>STFQKQFNA TTIPENDIEK TDPWFARHTP MPKIQNVSSS DLLMLLRQS.</u>				
PIGFVIII	<u>STFQKQFQT ITSPEDDVE. LDPQSGERTQ ALEELSVPSG DGSMLLGQN.</u>				
MURFVIII	<u>STFQKKKFKD STIPKNDMEK IEPQFEEIAE MLKVQSVSVS DMLMLLGQSH</u>				
CANFVIII	<u>STFQKQLKA TTTPENDIEK IDLQSGERTQ LIKAQSVSSS DLLMLLGQN.</u>				
	801				850
HUMFVIII	PTFHGLSLSD	LQEAKEYTFS	DDPSPGAIDS	NNSLSEMTHF	RPQLHHS GDM
PIGFVIII	PAPHGSSSSD	LQEARNE..A	DDYLPGARER	NTAPSAAARL	RPELHHS AER
MURFVIII	PTFHGLFLSD	GQEAIEAIAH	DDHSPNAIDS	NEGPSKVTQL	RPESHHS EKI
CANFVIII	PTPRGLFLSD	LREA..TDRA	DDHSRGAIER	NKGPPEVASL	RPELRHS EDR
	851				900
HUMFVIII	VFTPESGLQL	RLNEKLGTTA	ATELKKLDFK	VSSTSNLI.	.STIPSDNLA
PIGFVIII	VLTPPEPE...		.KELKKLDSK	MSSSDLLKT	SPTIPSDTLS
MURFVIII	VFTPQPGQL	RSNKSLETTI	EVKWKKLGLQ	VSSLPSNLMT	.TTILSDNLK
CANFVIII	EFTPEPELQL	RLNENLGTNT	TVELKKLDLK	ISSSDSLMT	SPTIPSDKLA
	901				950
HUMFVIII	AGTDNTSSLG	PPSMPVHYDS	QLDTTLFGKK	SSPLTESGGP	LSLSEENNDS
PIGFVIII	AETERTHSLG	PPHPQVNFRS	QLGAIVLGKN	SSHFIGAGVP	LGSTEED...
MURFVIII	ATFEKTSSG	FPDMPVHSSS	KLSTTAFGKK	AYSLVGSHVP	LNASEENS DS
CANFVIII	AATEKTGSLG	PPNMSVHFNS	HLGTIVFGNN	SSHLIQSGVP	LELSEEDNDS
	951				1000
HUMFVIII	KLLESGLMNS	QESSWGKNVS	STESGRLEFG	KRAHGPA LLT	KDNALFKVSI
PIGFVIII		HESSLGENVS	PVESDGIFEK	ERAHGPASLT	KDDVLFK VNI
MURFVIII	NILDSTLMYS	QESLPRDNIL	SIENDRLRE	KRFHGIALLT	KDNTLFKDNV
CANFVIII	KLLEAPLMNI	QESSLRENVL	SMESNRLFKE	ERIRGPASLI	KDNALFKVNI

Fig. 2b

4/7

	1001	1050
HUMFVIII	<u>SLKTKNKTSN NSATNRKTHI DGPSLLIENS PSVWQNI.LE SDTEFKKVTP</u>	
PIGFVIII	<u>SLVKTNKARV YLKTNRKIHI DDAALLTENR ASA.....</u>	
MURFVIII	<u>SLMKTNKTYN HSTTNEKLHT ESPT.SIENS TTDLQDAILK VNSEIQEVTA</u>	
CANFVIII	<u>SSVKTNRAPV NLTTNRKTRV AIPTLLIENS TSVWQDIMLE RNTEFKEVTS</u>	
	1051	1100
HUMFVIII	<u>LIHDRMLMDK NATALRLNHM SNKTTSSKNM EMVQKKKEGP IPPDAQNPDM</u>	
PIGFVIII	<u>.....TFMDK NTTASGLNHV SN.....</u>	
MURFVIII	<u>LIHDGTLGLK NSTYLRLNHM LNRTTSTKNK DIFHRKDEDP IPQDEENTIM</u>	
CANFVIII	<u>LIHNETFMDR NTTALGLNHV SNKTTLSKNV EMAHQKKEDP VPLRAENPDL</u>	
	1101	1150
HUMFVIII	<u>SFFKMLFLPE SARWIQORTHG KNSLNSGQGP SPKQLVSLGP EKSVEGQNF</u>	
PIGFVIII	<u>.....WIKGPLG KNPLSSSERGP SPELLTSSGS GKSVMKGQSSG</u>	
MURFVIII	<u>PFSKMLFLSE SSNWFKKTNG NNSLNSEQEH SPKQLVYLMF KKYVKNQSF</u>	
CANFVIII	<u>SSSKIPFLPD WI....KTHG KNSLSSEQRP SPKQLTSLGS EKSVKDQNF</u>	
	1151	1200
HUMFVIII	<u>SEKNKVVGK GEFTKDVGLK EMVFPSSRNL FLTNLDNLHE NNTHNQEKI</u>	
PIGFVIII	<u>QGRIRVAVEE EELSKG...K EMMLPNSLT FLTNSADVQG NDTHSQGKS</u>	
MURFVIII	<u>SEKNKVTVEQ DGFTKNIGLK DMAFPHMSI FLTTLSNVHE NGRHNQEKI</u>	
CANFVIII	<u>SE.EKVVGGE DEFTKDTLQ E.IFPNNKSI FFANLANVQE NDTYNQEKKS</u>	
	1201	1250
HUMFVIII	<u>QEEIEKKETL IQENVVLPQI HTVTGTKNFM KNLFLLSTRQ NVEGSYDGAY</u>	
PIGFVIII	<u>REEMERREKL VQEKVDLPQV YTATGTKNFL RNIFHQSTEP SVEGFDGGSH</u>	
MURFVIII	<u>QEEIE.KEAL IEEKVVLPQV HEATGSKNFL KDILILGTRQ NISLYE..VH</u>	
CANFVIII	<u>PEEIERKEKL TQENVALPQA HTMIGTKNFL KNLFLLSTKQ NVAGLEEQPY</u>	
	1251	1300
HUMFVIII	<u>APVLQDFRSL NDSTNRKKH TAHFSKKG.. EEENLEGLGN QTKQIVEKYA</u>	
PIGFVIII	<u>APVPQDSRSL NDSAERAETH IAHFSAIR.. EEAPLEAPGN RT.....</u>	
MURFVIII	<u>VPVLQNITSI NNSTNTVQIH MEHFFKRRKD KETNSEGLVN KTREMVKNY.</u>	
CANFVIII	<u>TPILQDTRSL NDSPHSEGIH MANFSKIR.. EEANLEGLGN QTNQMVERFP</u>	
	1301	1350
HUMFVIII	<u>CTTRISPNTS QQNFVTQRSK RALKQFRLPL EETELEKRII VDDTSTQWSK</u>	
PIGFVIII	<u>.....GPG PRSAVPRRVK QSLKQIRLPL EEIKPERGVV LNATSTRWS.</u>	
MURFVIII	<u>.....PS QKNITTQRSK RALGQFRL..STQWLK</u>	
CANFVIII	<u>STTRMSSNAS QH.VITQRGK RSLKQPRLSQ GEIKFERKVI ANDTSTQWSK</u>	
	1351	1400
HUMFVIII	<u>NMKHLTPSTL TQIDYNEKEK GAITQSPLSD CLTRSHSIPQ ANRSPLPIAK</u>	
PIGFVIII	<u>.....</u>	
MURFVIII	<u>TINCSTQCII KQIDHSKEMK KFITKSSLS SSVIK.STTQ TNSSDSHIVK</u>	
CANFVIII	<u>NMNYLAQGT LQIEYNEKEK RAITQSPLSD CSMRNHVITQ MNDALPVAK</u>	
	1401	1450
HUMFVIII	<u>VSSFPSIRPI YLTRVLFQDN SSHLPAAS.. .YRKKDSGV QESSHFLQGA</u>	
PIGFVIII	<u>.....ESSPILOGA</u>	
MURFVIII	<u>TSAFP...PI DLKRSPFQNK FSHVQASSYI YDFKTKSSRI QESNNFLKET</u>	
CANFVIII	<u>ESASPSVRHT DLTIPSQHN SSHLPASACN YTFRERTSGV QEGSHFLQEA</u>	
	1451	1500
HUMFVIII	<u>KKNLNLAIL TLEMTGDQRE VGSLGTSATN SVTYKKVENT VLPKPDLPKT</u>	
PIGFVIII	<u>KRNLSLPFL TLEMAGGQK ISALGKSAAG PLASGKLEKA VLSSAGLSEA</u>	
MURFVIII	<u>KINNPAIL PWNMFIDQK FTSPGKSNTN SVTYKKRENI IFLKPTLPEE</u>	
CANFVIII	<u>KRNLSLAFV TLGITEGQK FSSLGKSATN QPMYKKLENT VLLQPLSET</u>	
	1501	1550

Fig. 2c

5/7

HUMFVIII	SGKVELLPKV	HIYQKDLFPT	ETSNNGSPGHL	DLVEGSLLOQ	TEGAIKWNEA
PIGFVIII	SGKAEFLPKV	RVHREDLLPQ	KTSNVSCAHG	DLGQEIFLQK	TRGPVNLNKV
MURFVIII	SGKIELLPQV	SIQEEIILPT	ETSHGSPGHL	NLMKEVFLOK	IQGPTKWNKA
CANFVIII	SDKVELLSQV	HVDQEDSFPT	KTSNDSPGHL	DLMGKIFLOK	TQGPVKMNKT
1551					
HUMFVIII	NRPGKVPFLR	VATESSAKTP	SKLLDPLAWD	NHYGTQIPKE	EWKSQEKSPK
PIGFVIII	NRPG.....	RTP	SKLLGPPM..	PK	EWESLEKSPK
MURFVIII	KRHGES..IK	GKTESSKNTR	SKLLNHHAWD	YHYAAQIPKD	MWKSKEKSPE
CANFVIII	NSPGKVPFLK	WATESSEKIP	SKLLGVLAWD	NHYDTQIPSE	EWKSQKKSQT
1601					
HUMFVIII	KTAFKKKDTI	.LSLNACESN	HAIAAINEGO	NKPEIEVTWA	KQGRTERLC
PIGFVIII	STALRTKDII	SLPLDRHESN	HSIAAKNEGQ	AETQREAAWT	KQGGPGRLC
MURFVIII	IISIKQEDTI	.LSLRPHGNS	HSIGA.NEQK	NWPQRETTWV	KQGQTQRTC
CANFVIII	NTAFKKRDTI	.LPLGPCENN	DSTAINEGO	DKPQREAMWA	KQGEPRGLC
1651					
HUMFVIII	QNEFVLRRHQ	KEITRTTLQS	DQEEIDYDDT	ISVEMKKEDF	DIYDEDENQS
PIGFVIII	QNEFVLRRHQ	EDISLPTFPQ	EEDKMDYDDI	FSTETKGEDF	DIYGEDENQD
MURFVIII	QNEFVLRRHQ	ELS..AFQS	EQEATDYDDA	ITIETI.EDF	DIYSEDIKQG
CANFVIII	QNEFVSKHHQ	KEITVTTLQP	EEDKFEYDDT	FSIEMKREDF	DIYGDYENQG
1701					
HUMFVIII	PRSFQKKTRH	YFIAAVERLW	DYGMSSSPHV	LRNRAQSGSV	PQFKKVVFOE
PIGFVIII	PRSFQKTRH	YFIAAVEQLW	DYGMSESPRA	LRNRAQNGEV	PRFKKVVFRE
MURFVIII	PRSFQKTRH	YFIAAVERLW	DYGMSTS.HV	LRNRYQSDNV	PQFKKVVFOE
CANFVIII	LRSFQKKTRH	YFIAAVERLW	DYGMSRSPHI	LRNRAQSGDV	QQFKKVVFOE
1751					
HUMFVIII	FTDGSFTQPL	YRGELNEHLG	LLGPYIRAEV	EDNIMVTFRN	QASRPYSFYS
PIGFVIII	FADGSFTQPS	YRGELNKHG	LLGPYIRAEV	EDNIMVTFKN	QASRPYSFYS
MURFVIII	FTDGSFSQPL	YRGELNEHLG	LLGPYIRAEV	EDNIMVTFKN	QASRPYSFYS
CANFVIII	FTDGSFTQPL	YRGELNEHLG	LLGPYIRAEV	EDNIVVTFKN	QASRPYSFYS
1801					
HUMFVIII	SLISYEEDQR	QGAEPKKNFV	KPNETKTYFW	KVQHMAPTK	DEFDCKAWAY
PIGFVIII	SLISYPDDQE	QGAEPKKNFV	QNETRTYFW	KVQHMAPTE	DEFDCKAWAY
MURFVIII	SLISYKEDQ.	RGEPRRNFV	KPNETKIYFW	KVQHMAPTE	DEFDCKAWAY
CANFVIII	SLISYDEDEG	QGAEPKKNFV	NPNETKIYFW	KVQHMAPTK	DEFDCKAWAY
1851					
HUMFVIII	FSDVDLEKDV	HSGLIGPLL	CHTNTLNPAH	GRQVTVQEFA	LLFTIFDETK
PIGFVIII	FSDVDLEKDV	HSGLIGPLLI	CRANTLNAAH	GRQVTVQEFA	LLFTIFDETK
MURFVIII	FSDVDLERDM	HSGLIGPLLI	CHANTLNPAH	GRQVSVQEFA	LLFTIFDETK
CANFVIII	FSDVDLEKDV	HSGLIGPLLI	CRSNTLNPAH	GRQVTVQEFA	LVFTIFDETK
1901					
HUMFVIII	SWYFTENMER	NCRAPCNIQM	EDPTFKENYR	FHAINGYIMD	TLPGLVMAQD
PIGFVIII	SWYFTENVER	NCRAPCHLQM	EDPTLKENYR	FHAINGYVMD	TLPGLVMAQN
MURFVIII	SWYFTENVKR	NCKTPCNFQM	EDPTLKENYR	FHAINGYVMD	TLPGLVMAQD
CANFVIII	SWYFTENLER	NCRAPCNVQK	EDPTLKENFR	FHAINGYVKD	TLPGLVMAQD
1951					
HUMFVIII	QRIRWYLLSM	GSNENIHSIH	FSGHVFTVRK	KEEYKMALYN	LYPGVFETVE
PIGFVIII	QRIRWYLLSM	GSNENIHSIH	FSGHVFSVRK	KEEYKMAVYN	LYPGVFETVE
MURFVIII	QRIRWYLLSM	GNNENIQSIH	FSGHVFTVRK	KEEYKMAVYN	LYPGVFETVE
CANFVIII	QKVRWYLLSM	GSNENIHSIH	FSGHVFTVRK	KEEYKMAVYN	LYPGVFETVE
2001					
HUMFVIII	MLPSKAGIWR	VECLIGEHLH	AGMSTLFLVY	SNKCQTPLGM	ASGHIRDFQI

Fig. 2d

6/7

PIGFVIII	MLPSKVGIWR	IECLIGEHLQ	AGMSTTFLVY	SKECQAPLGM	ASGRIRDFQI
MURFVIII	MIPSRAGIWR	VECLIGEHLQ	AGMSTLFLVY	SKQCQIPLGM	ASGSIRDFQI
CANFVIII	MLPSQVGIWR	IECLIGEHLQ	AGMSTLFLVY	SKKCQTPLGM	ASGHIRDFQI
2051			2100		
HUMFVIII	TASGQYGQWA	PKLARLHYSQ	SINAWSTKEP	FSWIKVDLLA	PMIIHGIMTQ
PIGFVIII	TASGQYGQWA	PKLARLHYSQ	SINAWSTKDP	HSWIKVDLLA	PMIIHGIMTQ
MURFVIII	TASGHYGQWA	PNLARLHYSQ	SINAWSTKEP	FSWIKVDLLA	PMIVHGIKTQ
CANFVIII	TASGQYGQWA	PKLARLHYSQ	SINAWSTKDP	FSWIKVDLLA	PMIIHGIMTQ
2101			2150		
HUMFVIII	GARQKFSSLY	ISQFIIMYSL	DGKKWQTYRG	NSTGTLMVFF	GNVDSSGIKH
PIGFVIII	GARQKFSSLY	ISQFIIMYSL	DGRNWQSYRG	NSTGTLMVFF	GNVDASGIKH
MURFVIII	GARQKFSSLY	ISQFIIMYSL	DGKKWLSYQG	NSTGTLMVFF	GNVDSSGIKH
CANFVIII	GARQKFSSLY	VSQFIIMYSL	DGNKWHSYRG	NSTGTLMVFF	GNVDSSGIKH
2151			2200		
HUMFVIII	NIFNPPIIAR	YIRLHPHYS	IRSTLRMELM	GCDLNSCSMP	LGMEKSAISD
PIGFVIII	NIFNPPIVAR	YIRLHPHYS	IRSTLRMELM	GCDLNSCSMP	LGMQNKAISD
MURFVIII	NSFNPPIIAR	YIRLHPHSS	IRSTLRMELM	GCDLNSCSIP	LGMEKSVISD
CANFVIII	NIFNPPIIAQ	YIRLHPHYS	IRSTLRMELL	GCDFNSCSMP	LGMEKSAISD
2201			2250		
HUMFVIII	AQITASSYFT	NMFATWSPSQ	ARLHLQGRSN	AWRPQVNNPK	EWLQVDFQKT
PIGFVIII	SQITASSHLS	NIFATWSPSQ	ARLHLQGRTN	AWRPVSSAE	EWLQVDLQKT
MURFVIII	TQITASSYFT	NMFATWSPSQ	ARLHLQGRTN	AWRPQVNDPK	QWLQVDLQKT
CANFVIII	AQITASSYLS	SMLATWSPSQ	ARLHLQGRTN	AWRPQANNPK	EWLQVDFRKT
2251			2300		
HUMFVIII	MKVTGVTQTG	VKSLLTSMYV	KEFLISSSQD	GHQWTLFFQN	GKVKVFQGNQ
PIGFVIII	VKVTGITTTG	VKSLLSSMYV	KEFLVSSSQD	GRRWTLFLQD	GHTKVFQGNQ
MURFVIII	MKVTGIITQG	VKSFLTSMFV	KEFLISSSQD	GHHWTQILYN	GKVKVFQGNQ
CANFVIII	MKVTGITTTG	VKSLLISMYV	KEFLISSSQD	GHNWTLFLQN	GKVKVFQGNR
2301			2345		
HUMFVIII	DSFTPVVNSL	DPPLLTRYLR	IHPQSWVHQI	ALRMEVLGCE	AQDLY
PIGFVIII	DSSTPVVNAL	DPPLFTRYLR	IHPTSWAQHI	ALRLEVLGCE	AQDLY
MURFVIII	DSSTPMMNSL	DPPLLTRYLR	IHPQIWEHQI	ALRLEILGCE	AQQQY
CANFVIII	DSSTPVRNRL	EPPLVARYVR	LHPQSWAHHI	ALRLEVLGCD	TQQPA

Fig. 2e

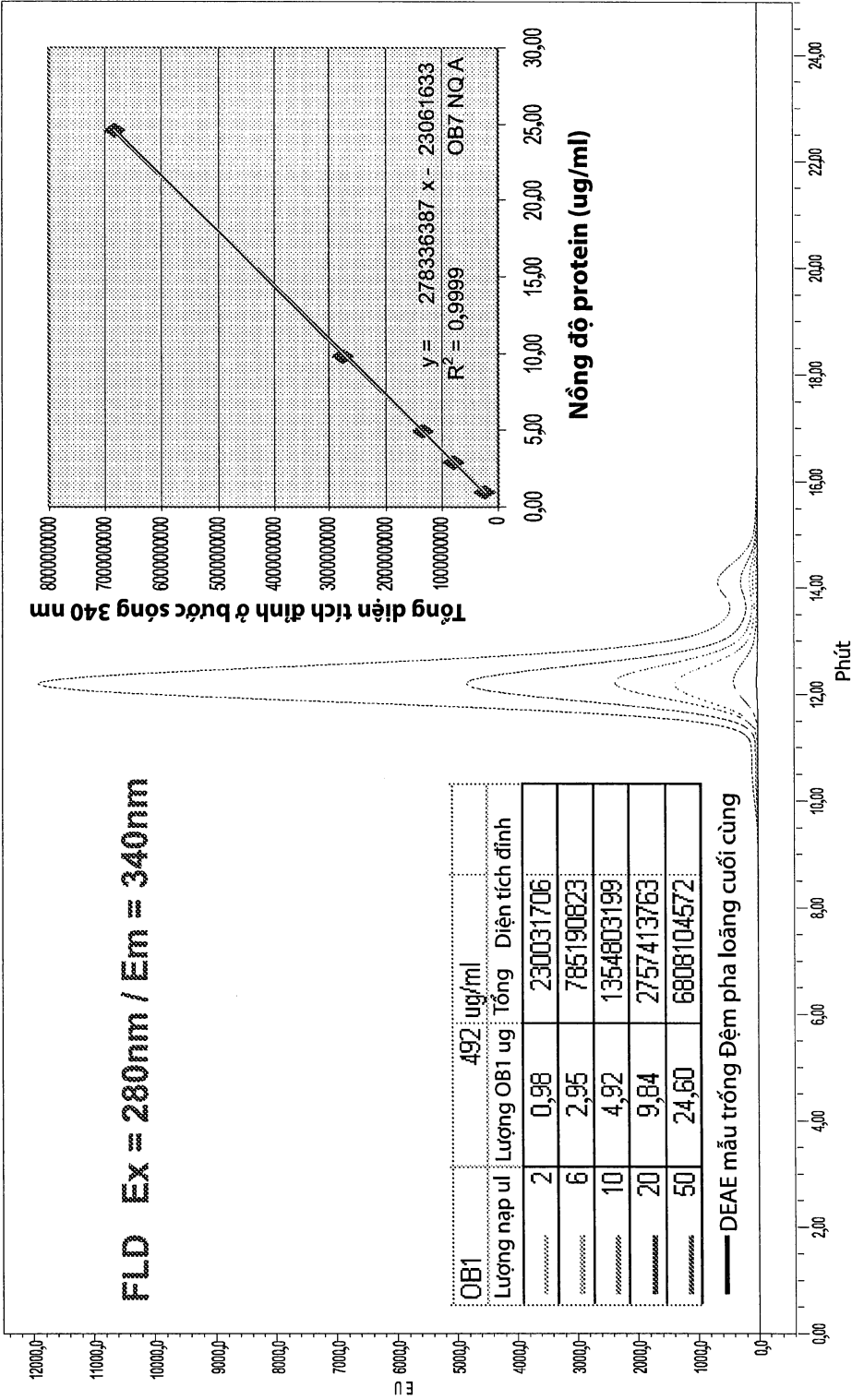


Fig. 3

DANH MỤC TRÌNH TỰ

<110> Ipsen Pharma S.A.S.

<120> Biến thể của yếu tố chống ưa chảy máu VIII, phương pháp sản xuất và dược phẩm chứa biến thể này

<130> IPH 021

<160> 12

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 1421

<212> PRT

<213> sus scrofa

<400> 1

Ala Ile Arg Arg Tyr Tyr Leu Gly Ala Val Glu Leu Ser Trp Asp Tyr
1 5 10 15

Arg Gln Ser Glu Leu Leu Arg Glu Leu His Val Asp Thr Arg Phe Pro
20 25 30

Ala Thr Ala Pro Gly Ala Leu Pro Leu Gly Pro Ser Val Leu Tyr Lys
35 40 45

Lys Thr Val Phe Val Glu Phe Thr Asp Gln Leu Phe Ser Val Ala Arg
50 55 60

Pro Arg Pro Pro Trp Met Gly Leu Leu Gly Pro Thr Ile Gln Ala Glu
65 70 75 80

Val Tyr Asp Thr Val Val Val Thr Leu Lys Asn Met Ala Ser His Pro
85 90 95

Val Ser Leu His Ala Val Gly Val Ser Phe Trp Lys Ser Ser Glu Gly
100 105 110

Ala Glu Tyr Glu Asp His Thr Ser Gln Arg Glu Lys Glu Asp Asp Lys
115 120 125

Val Leu Pro Gly Lys Ser Gln Thr Tyr Val Trp Gln Val Leu Lys Glu
130 135 140

Asn Gly Pro Thr Ala Ser Asp Pro Pro Cys Leu Thr Tyr Ser Tyr Leu
145 150 155 160

ser His Val Asp Leu Val Lys Asp Leu Asn Ser Gly Leu Ile Gly Ala
165 170 175

Leu Leu Val Cys Arg Glu Gly Ser Leu Thr Arg Glu Arg Thr Gln Asn
 180 185 190
 Leu His Glu Phe Val Leu Leu Phe Ala Val Phe Asp Glu Gly Lys Ser
 195 200 205
 Trp His Ser Ala Arg Asn Asp Ser Trp Thr Arg Ala Met Asp Pro Ala
 210 215 220
 Pro Ala Arg Ala Gln Pro Ala Met His Thr Val Asn Gly Tyr Val Asn
 225 230 235 240
 Arg Ser Leu Pro Gly Leu Ile Gly Cys His Lys Lys Ser Val Tyr Trp
 245 250 255
 His Val Ile Gly Met Gly Thr Ser Pro Glu Val His Ser Ile Phe Leu
 260 265 270
 Glu Gly His Thr Phe Leu Val Arg His His Arg Gln Ala Ser Leu Glu
 275 280 285
 Ile Ser Pro Leu Thr Phe Leu Thr Ala Gln Thr Phe Leu Met Asp Leu
 290 295 300
 Gly Gln Phe Leu Leu Phe Cys His Ile Ser Ser His His His Gly Gly
 305 310 315 320
 Met Glu Ala His Val Arg Val Glu Ser Cys Ala Glu Glu Pro Gln Leu
 325 330 335
 Arg Arg Lys Ala Asp Glu Glu Glu Asp Tyr Asp Asp Asn Leu Tyr Asp
 340 345 350
 Ser Asp Met Asp Val Val Arg Leu Asp Gly Asp Asp Val Ser Pro Phe
 355 360 365
 Ile Gln Ile Arg Ser Val Ala Lys Lys His Pro Lys Thr Trp Val His
 370 375 380
 Tyr Ile Ser Ala Glu Glu Glu Asp Trp Asp Tyr Ala Pro Ala Val Pro
 385 390 395 400
 Ser Pro Ser Asp Arg Ser Tyr Lys Ser Leu Tyr Leu Asn Ser Gly Pro
 405 410 415
 Gln Arg Ile Gly Arg Lys Tyr Lys Lys Ala Arg Phe Val Ala Tyr Thr
 420 425 430

Asp Val Thr Phe Lys Thr Arg Lys Ala Ile Pro Tyr Glu Ser Gly Ile
 435 440 445
 Leu Gly Pro Leu Leu Tyr Gly Glu Val Gly Asp Thr Leu Leu Ile Ile
 450 455 460
 Phe Lys Asn Lys Ala Ser Arg Pro Tyr Asn Ile Tyr Pro His Gly Ile
 465 470 475 480
 Thr Asp Val Ser Ala Leu His Pro Gly Arg Leu Leu Lys Gly Trp Lys
 485 490 495
 His Leu Lys Asp Met Pro Ile Leu Pro Gly Glu Thr Phe Lys Tyr Lys
 500 505 510
 Trp Thr Val Thr Val Glu Asp Gly Pro Thr Lys Ser Asp Pro Arg Cys
 515 520 525
 Leu Thr Arg Tyr Tyr Ser Ser Ser Ile Asn Leu Glu Lys Asp Leu Ala
 530 535 540
 Ser Gly Leu Ile Gly Pro Leu Leu Ile Cys Tyr Lys Glu Ser Val Asp
 545 550 555 560
 Gln Arg Gly Asn Gln Met Met Ser Asp Lys Arg Asn Val Ile Leu Phe
 565 570 575
 Ser Val Phe Asp Glu Asn Gln Ser Trp Tyr Leu Ala Glu Asn Ile Gln
 580 585 590
 Arg Phe Leu Pro Asn Pro Asp Gly Leu Gln Pro Gln Asp Pro Glu Phe
 595 600 605
 Gln Ala Ser Asn Ile Met His Ser Ile Asn Gly Tyr Val Phe Asp Ser
 610 615 620
 Leu Gln Leu Ser Val Cys Leu His Glu Val Ala Tyr Trp Tyr Ile Leu
 625 630 635 640
 Ser Val Gly Ala Gln Thr Asp Phe Leu Ser Val Phe Phe Ser Gly Tyr
 645 650 655
 Thr Phe Lys His Lys Met Val Tyr Glu Asp Thr Leu Thr Leu Phe Pro
 660 665 670
 Phe Ser Gly Glu Thr Val Phe Met Ser Met Glu Asn Pro Gly Leu Trp
 675 680 685

Val Leu Gly Cys His Asn Ser Asp Leu Arg Asn Arg Gly Met Thr Ala
 690 695 700
 Leu Leu Lys Val Tyr Ser Cys Asp Arg Ser Phe Ala Gln Asn Ser Arg
 705 710 715 720
 Pro Pro Ser Ala Ser Ala Pro Lys Pro Pro Val Leu Arg Arg His Gln
 725 730 735
 Arg Asp Ile Ser Leu Pro Thr Phe Gln Pro Glu Glu Asp Lys Met Asp
 740 745 750
 Tyr Asp Asp Ile Phe Ser Thr Glu Thr Lys Gly Glu Asp Phe Asp Ile
 755 760 765
 Tyr Gly Glu Asp Glu Asn Gln Asp Pro Arg Ser Phe Gln Lys Arg Thr
 770 775 780
 Arg His Tyr Phe Ile Ala Ala Val Glu Gln Leu Trp Asp Tyr Gly Met
 785 790 795 800
 Ser Glu Ser Pro Arg Ala Leu Arg Asn Arg Ala Gln Asn Gly Glu Val
 805 810 815
 Pro Arg Phe Lys Lys Val Val Phe Arg Glu Phe Ala Asp Gly Ser Phe
 820 825 830
 Thr Gln Pro Ser Tyr Arg Gly Glu Leu Asn Lys His Leu Gly Leu Leu
 835 840 845
 Gly Pro Tyr Ile Arg Ala Glu Val Glu Asp Asn Ile Met Val Thr Phe
 850 855 860
 Lys Asn Gln Ala Ser Arg Pro Tyr Ser Phe Tyr Ser Ser Leu Ile Ser
 865 870 875 880
 Tyr Pro Asp Asp Gln Glu Gln Gly Ala Glu Pro Arg His Asn Phe Val
 885 890 895
 Gln Pro Asn Glu Thr Arg Thr Tyr Phe Trp Lys Val Gln His His Met
 900 905 910
 Ala Pro Thr Glu Asp Glu Phe Asp Cys Lys Ala Trp Ala Tyr Phe Ser
 915 920 925
 Asp Val Asp Leu Glu Lys Asp Val His Ser Gly Leu Ile Gly Pro Leu
 930 935 940

Leu Ile Cys Arg Ala Asn Thr Leu Asn Ala Ala His Gly Arg Gln Val
 945 950 955 960
 Thr Val Gln Glu Phe Ala Leu Phe Phe Thr Ile Phe Asp Glu Thr Lys
 965 970 975
 Ser Trp Tyr Phe Thr Glu Asn Val Glu Arg Asn Cys Arg Ala Pro Cys
 980 985 990
 His Leu Gln Met Glu Asp Pro Thr Leu Lys Glu Asn Tyr Arg Phe His
 995 1000 1005
 Ala Ile Asn Gly Tyr Val Met Asp Thr Leu Pro Gly Leu Val Met
 1010 1015 1020
 Ala Gln Asn Gln Arg Ile Arg Trp Tyr Leu Leu Ser Met Gly Ser
 1025 1030 1035
 Asn Glu Asn Ile His Ser Ile His Phe Ser Gly His Val Phe Ser
 1040 1045 1050
 Val Arg Lys Lys Glu Glu Tyr Lys Met Ala Val Tyr Asn Leu Tyr
 1055 1060 1065
 Pro Gly Val Phe Glu Thr Val Glu Met Leu Pro Ser Lys Val Gly
 1070 1075 1080
 Ile Trp Arg Ile Glu Cys Leu Ile Gly Glu His Leu Gln Ala Gly
 1085 1090 1095
 Met Ser Thr Thr Phe Leu Val Tyr Ser Lys Glu Cys Gln Ala Pro
 1100 1105 1110
 Leu Gly Met Ala Ser Gly Arg Ile Arg Asp Phe Gln Ile Thr Ala
 1115 1120 1125
 Ser Gly Gln Tyr Gly Gln Trp Ala Pro Lys Leu Ala Arg Leu His
 1130 1135 1140
 Tyr Ser Gly Ser Ile Asn Ala Trp Ser Thr Lys Asp Pro His Ser
 1145 1150 1155
 Trp Ile Lys Val Asp Leu Leu Ala Pro Met Ile Ile His Gly Ile
 1160 1165 1170
 Met Thr Gln Gly Ala Arg Gln Lys Phe Ser Ser Leu Tyr Ile Ser
 1175 1180 1185

Gln Phe Ile Ile Met Tyr Ser Leu Asp Gly Arg Asn Trp Gln Ser
 1190 1195 1200
 Tyr Arg Gly Asn Ser Thr Gly Thr Leu Met Val Phe Phe Gly Asn
 1205 1210 1215
 Val Asp Ala Ser Gly Ile Lys His Asn Ile Phe Asn Pro Pro Ile
 1220 1225 1230
 Val Ala Arg Tyr Ile Arg Leu His Pro Thr His Tyr Ser Ile Arg
 1235 1240 1245
 Ser Thr Leu Arg Met Glu Leu Met Gly Cys Asp Leu Asn Ser Cys
 1250 1255 1260
 Ser Met Pro Leu Gly Met Gln Asn Lys Ala Ile Ser Asp Ser Gln
 1265 1270 1275
 Ile Thr Ala Ser Ser His Leu Ser Asn Ile Phe Ala Thr Trp Ser
 1280 1285 1290
 Pro Ser Gln Ala Arg Leu His Leu Gln Gly Arg Thr Asn Ala Trp
 1295 1300 1305
 Arg Pro Arg Val Ser Ser Ala Glu Glu Trp Leu Gln Val Asp Leu
 1310 1315 1320
 Gln Lys Thr Val Lys Val Thr Gly Ile Thr Thr Gln Gly Val Lys
 1325 1330 1335
 Ser Leu Leu Ser Ser Met Tyr Val Lys Glu Phe Leu Val Ser Ser
 1340 1345 1350
 Ser Gln Asp Gly Arg Arg Trp Thr Leu Phe Leu Gln Asp Gly His
 1355 1360 1365
 Thr Lys Val Phe Gln Gly Asn Gln Asp Ser Ser Thr Pro Val Val
 1370 1375 1380
 Asn Ala Leu Asp Pro Pro Leu Phe Thr Arg Tyr Leu Arg Ile His
 1385 1390 1395
 Pro Thr Ser Trp Ala Gln His Ile Ala Leu Arg Leu Glu Val Leu
 1400 1405 1410
 Gly Cys Glu Ala Gln Asp Leu Tyr
 1415 1420

<210> 2
 <211> 1397
 <212> PRT
 <213> homo sapiens

<400> 2

Ala Thr Arg Arg Tyr Tyr Leu Gly Ala Val Glu Leu Ser Trp Asp Tyr
 1 5 10 15

Met Gln Ser Asp Leu Gly Glu Leu Pro Val Asp Ala Arg Phe Pro Pro
 20 25 30

Arg Val Pro Lys Ser Phe Pro Phe Asn Thr Ser Val Val Tyr Lys Lys
 35 40 45

Thr Leu Phe Val Glu Phe Thr Asp His Leu Phe Asn Ile Ala Lys Pro
 50 55 60

Arg Pro Pro Trp Met Gly Leu Leu Gly Pro Thr Ile Gln Ala Glu Val
 65 70 75 80

Tyr Asp Thr Val Val Ile Thr Leu Lys Asn Met Ala Ser His Pro Val
 85 90 95

Ser Leu His Ala Val Gly Val Ser Tyr Trp Lys Ala Ser Glu Gly Ala
 100 105 110

Glu Tyr Asp Asp Gln Thr Ser Gln Arg Glu Lys Glu Asp Asp Lys Val
 115 120 125

Phe Pro Gly Gly Ser His Thr Tyr Val Trp Gln Val Leu Lys Glu Asn
 130 135 140

Gly Pro Met Ala Ser Asp Pro Leu Cys Leu Thr Tyr Ser Tyr Leu Ser
 145 150 155 160

His Val Asp Leu Val Lys Asp Leu Asn Ser Gly Leu Ile Gly Ala Leu
 165 170 175

Leu Val Cys Arg Glu Gly Ser Leu Ala Lys Glu Lys Thr Gln Thr Leu
 180 185 190

His Lys Phe Ile Leu Leu Phe Ala Val Phe Asp Glu Gly Lys Ser Trp
 195 200 205

His Ser Glu Thr Lys Asn Ser Leu Met Gln Asp Arg Asp Ala Ala ser
 210 215 220

Ala Arg Ala Trp Pro Lys Met His Thr Val Asn Gly Tyr Val Asn Arg
 225 230 235 240
 Ser Leu Pro Gly Leu Ile Gly Cys His Arg Lys Ser Val Tyr Trp His
 245 250 255
 Val Ile Gly Met Gly Thr Thr Pro Glu Val His Ser Ile Phe Leu Glu
 260 265 270
 Gly His Thr Phe Leu Val Arg Asn His Arg Gln Ala Ser Leu Glu Ile
 275 280 285
 Ser Pro Ile Thr Phe Leu Thr Ala Gln Thr Leu Leu Met Asp Leu Gly
 290 295 300
 Gln Phe Leu Leu Phe Cys His Ile Ser Ser His Gln His Asp Gly Met
 305 310 315 320
 Glu Ala Tyr Val Lys Val Asp Ser Cys Pro Glu Glu Pro Gln Leu Arg
 325 330 335
 Met Lys Asn Asn Glu Glu Ala Glu Asp Tyr Asp Asp Asp Leu Thr Asp
 340 345 350
 Ser Glu Met Asp Val Val Arg Phe Asp Asp Asp Asn Ser Pro Ser Phe
 355 360 365
 Ile Gln Ile Arg Ser Val Ala Lys Lys His Pro Lys Thr Trp Val His
 370 375 380
 Tyr Ile Ala Ala Glu Glu Glu Asp Trp Asp Tyr Ala Pro Leu Val Leu
 385 390 395 400
 Ala Pro Asp Asp Arg Ser Tyr Lys Ser Gln Tyr Leu Asn Asn Gly Pro
 405 410 415
 Gln Arg Ile Gly Arg Lys Tyr Lys Lys Val Arg Phe Met Ala Tyr Thr
 420 425 430
 Asp Glu Thr Phe Lys Thr Arg Glu Ala Ile Gln His Glu Ser Gly Ile
 435 440 445
 Leu Gly Pro Leu Leu Tyr Gly Glu Val Gly Asp Thr Leu Leu Ile Ile
 450 455 460
 Phe Lys Asn Gln Ala Ser Arg Pro Tyr Asn Ile Tyr Pro His Gly Ile
 465 470 475 480

Thr Asp Val Arg Pro Leu Tyr Ser Arg Arg Leu Pro Lys Gly Val Lys
 485 490 495
 His Leu Lys Asp Phe Pro Ile Leu Pro Gly Glu Ile Phe Lys Tyr Lys
 500 505 510
 Trp Thr Val Thr Val Glu Asp Gly Pro Thr Lys Ser Asp Pro Arg Cys
 515 520 525
 Leu Thr Arg Tyr Tyr Ser Ser Phe Val Asn Met Glu Arg Asp Leu Ala
 530 535 540
 Ser Gly Leu Ile Gly Pro Leu Leu Ile Cys Tyr Lys Glu Ser Val Asp
 545 550 555 560
 Gln Arg Gly Asn Gln Ile Met Ser Asp Lys Arg Asn Val Ile Leu Phe
 565 570 575
 Ser Val Phe Asp Glu Asn Arg Ser Trp Tyr Leu Thr Glu Asn Ile Gln
 580 585 590
 Arg Phe Leu Pro Asn Pro Ala Gly Val Gln Leu Glu Asp Pro Glu Phe
 595 600 605
 Gln Ala Ser Asn Ile Met His Ser Ile Asn Gly Tyr Val Phe Asp Ser
 610 615 620
 Leu Gln Leu Ser Val Cys Leu His Glu Val Ala Tyr Trp Tyr Ile Leu
 625 630 635 640
 Ser Ile Gly Ala Gln Thr Asp Phe Leu Ser Val Phe Phe Ser Gly Tyr
 645 650 655
 Thr Phe Lys His Lys Met Val Tyr Glu Asp Thr Leu Thr Leu Phe Pro
 660 665 670
 Phe Ser Gly Glu Thr Val Phe Met Ser Met Glu Asn Pro Gly Leu Trp
 675 680 685
 Ile Leu Gly Cys His Asn Ser Asp Phe Arg Asn Arg Gly Met Thr Ala
 690 695 700
 Leu Leu Lys Val Ser Ser Cys Asp Lys Glu Ile Thr Arg Thr Thr Leu
 705 710 715 720
 Gln Ser Asp Gln Glu Glu Ile Asp Tyr Asp Asp Thr Ile Ser Val Glu
 725 730 735

Met Lys Lys Glu Asp Phe Asp Ile Tyr Asp Glu Asp Glu Asn Gln Ser
 740 745 750
 Pro Arg Ser Phe Gln Lys Lys Thr Arg His Tyr Phe Ile Ala Ala Val
 755 760 765
 Glu Arg Leu Trp Asp Tyr Gly Met Ser Ser Ser Pro His Val Leu Arg
 770 775 780
 Asn Arg Ala Gln Ser Gly Ser Val Pro Gln Phe Lys Lys Val Val Phe
 785 790 795 800
 Gln Glu Phe Thr Asp Gly Ser Phe Thr Gln Pro Leu Tyr Arg Gly Glu
 805 810 815
 Leu Asn Glu His Leu Gly Leu Leu Gly Pro Tyr Ile Arg Ala Glu Val
 820 825 830
 Glu Asp Asn Ile Met Val Thr Phe Arg Asn Gln Ala Ser Arg Pro Tyr
 835 840 845
 Ser Phe Tyr Ser Ser Leu Ile Ser Tyr Glu Glu Asp Gln Arg Gln Gly
 850 855 860
 Ala Glu Pro Arg Lys Asn Phe Val Lys Pro Asn Glu Thr Lys Thr Tyr
 865 870 875 880
 Phe Trp Lys Val Gln His His Met Ala Pro Thr Lys Asp Glu Phe Asp
 885 890 895
 Cys Lys Ala Trp Ala Tyr Phe Ser Asp Val Asp Leu Glu Lys Asp Val
 900 905 910
 His Ser Gly Leu Ile Gly Pro Leu Leu Val Cys His Thr Asn Thr Leu
 915 920 925
 Asn Pro Ala His Gly Arg Gln Val Thr Val Gln Glu Phe Ala Leu Phe
 930 935 940
 Phe Thr Ile Phe Asp Glu Thr Lys Ser Trp Tyr Phe Thr Glu Asn Met
 945 950 955 960
 Glu Arg Asn Cys Arg Ala Pro Cys Asn Ile Gln Met Glu Asp Pro Thr
 965 970 975
 Phe Lys Glu Asn Tyr Arg Phe His Ala Ile Asn Gly Tyr Ile Met Asp
 980 985 990

Thr Leu Pro Gly Leu Val Met Ala Gln Asp Gln Arg Ile Arg Trp Tyr
 995 1000 1005
 Leu Leu Ser Met Gly Ser Asn Glu Asn Ile His Ser Ile His Phe
 1010 1015 1020
 Ser Gly His Val Phe Thr Val Arg Lys Lys Glu Glu Tyr Lys Met
 1025 1030 1035
 Ala Leu Tyr Asn Leu Tyr Pro Gly Val Phe Glu Thr Val Glu Met
 1040 1045 1050
 Leu Pro Ser Lys Ala Gly Ile Trp Arg Val Glu Cys Leu Ile Gly
 1055 1060 1065
 Glu His Leu His Ala Gly Met Ser Thr Leu Phe Leu Val Tyr Ser
 1070 1075 1080
 Asn Lys Cys Gln Thr Pro Leu Gly Met Ala Ser Gly His Ile Arg
 1085 1090 1095
 Asp Phe Gln Ile Thr Ala Ser Gly Gln Tyr Gly Gln Trp Ala Pro
 1100 1105 1110
 Lys Leu Ala Arg Leu His Tyr Ser Gly Ser Ile Asn Ala Trp Ser
 1115 1120 1125
 Thr Lys Glu Pro Phe Ser Trp Ile Lys Val Asp Leu Leu Ala Pro
 1130 1135 1140
 Met Ile Ile His Gly Ile Lys Thr Gln Gly Ala Arg Gln Lys Phe
 1145 1150 1155
 Ser Ser Leu Tyr Ile Ser Gln Phe Ile Ile Met Tyr Ser Leu Asp
 1160 1165 1170
 Gly Lys Lys Trp Gln Thr Tyr Arg Gly Asn Ser Thr Gly Thr Leu
 1175 1180 1185
 Met Val Phe Phe Gly Asn Val Asp Ser Ser Gly Ile Lys His Asn
 1190 1195 1200
 Ile Phe Asn Pro Pro Ile Ile Ala Arg Tyr Ile Arg Leu His Pro
 1205 1210 1215
 Thr His Tyr Ser Ile Arg Ser Thr Leu Arg Met Glu Leu Met Gly
 1220 1225 1230

Cys Asp Leu Asn Ser Cys Ser Met Pro Leu Gly Met Glu Ser Lys
1235 1240 1245

Ala Ile Ser Asp Ala Gln Ile Thr Ala Ser Ser Tyr Phe Thr Asn
1250 1255 1260

Met Phe Ala Thr Trp Ser Pro Ser Lys Ala Arg Leu His Leu Gln
1265 1270 1275

Gly Arg Ser Asn Ala Trp Arg Pro Gln Val Asn Asn Pro Lys Glu
1280 1285 1290

Trp Leu Gln Val Asp Phe Gln Lys Thr Met Lys Val Thr Gly Val
1295 1300 1305

Thr Thr Gln Gly Val Lys Ser Leu Leu Thr Ser Met Tyr Val Lys
1310 1315 1320

Glu Phe Leu Ile Ser Ser Ser Gln Asp Gly His Gln Trp Thr Leu
1325 1330 1335

Phe Phe Gln Asn Gly Lys Val Lys Val Phe Gln Gly Asn Gln Asp
1340 1345 1350

Ser Phe Thr Pro Val Val Asn Ser Leu Asp Pro Pro Leu Leu Thr
1355 1360 1365

Arg Tyr Leu Arg Ile His Pro Gln Ser Trp Val His Gln Ile Ala
1370 1375 1380

Leu Arg Met Glu Val Leu Gly Cys Glu Ala Gln Asp Leu Tyr
1385 1390 1395

<210> 3
<211> 1397
<212> PRT
<213> Canis familiaris

<400> 3

Ala Thr Arg Lys Tyr Tyr Leu Gly Ala Val Glu Leu Ser Trp Asp Tyr
1 5 10 15

Met Gln Ser Asp Leu Leu Ser Ala Leu His Ala Asp Thr Ser Phe Ser
20 25 30

Ser Arg Val Pro Gly Ser Leu Pro Leu Thr Thr Ser Val Thr Tyr Arg
35 40 45

Lys Thr Val Phe Val Glu Phe Thr Asp Asp Leu Phe Asn Ile Ala Lys

50					55					60					
Pro 65	Arg	Pro	Pro	Trp	Met 70	Gly	Leu	Leu	Gly	Pro 75	Thr	Ile	Gln	Ala	Glu 80
Val	Tyr	Asp	Thr	Val 85	Val	Ile	Val	Leu	Lys 90	Asn	Met	Ala	Ser	His 95	Pro
Val	Ser	Leu	His 100	Ala	Val	Gly	Val	Ser 105	Tyr	Trp	Lys	Ala	Ser 110	Glu	Gly
Ala	Glu	Tyr 115	Glu	Asp	Gln	Thr	Ser 120	Gln	Lys	Glu	Lys	Glu 125	Asp	Asp	Asn
Val	Ile 130	Pro	Gly	Glu	Ser	His 135	Thr	Tyr	Val	Trp	Gln 140	Val	Leu	Lys	Glu
Asn 145	Gly	Pro	Met	Ala	Ser 150	Asp	Pro	Pro	Cys	Leu 155	Thr	Tyr	Ser	Tyr	Phe 160
Ser	His	Val	Asp	Leu 165	Val	Lys	Asp	Leu	Asn 170	Ser	Gly	Leu	Ile	Gly 175	Ala
Leu	Leu	Val	Cys 180	Lys	Glu	Gly	Ser	Leu 185	Ala	Lys	Glu	Arg	Thr 190	Gln	Thr
Leu	Gln	Glu 195	Phe	Val	Leu	Leu	Phe 200	Ala	Val	Phe	Asp	Glu 205	Gly	Lys	Ser
Trp	His 210	Ser	Glu	Thr	Asn	Ala 215	Ser	Leu	Thr	Gln	Ala 220	Glu	Ala	Gln	His
Glu 225	Leu	His	Thr	Ile	Asn 230	Gly	Tyr	Val	Asn	Arg 235	Ser	Leu	Pro	Gly	Leu 240
Thr	Val	Cys	His	Lys 245	Arg	Ser	Val	Tyr	Trp 250	His	Val	Ile	Gly	Met 255	Gly
Thr	Thr	Pro	Glu 260	Val	His	Ser	Ile	Phe 265	Leu	Glu	Gly	His	Thr 270	Phe	Leu
Val	Arg	Asn 275	His	Arg	Gln	Ala	Ser 280	Leu	Glu	Ile	Ser	Pro 285	Ile	Thr	Phe
Leu	Thr 290	Ala	Gln	Thr	Phe	Leu 295	Met	Asp	Leu	Gly	Gln 300	Phe	Leu	Leu	Phe
Cys	His	Ile	Pro	Ser	His	Gln	His	Asp	Gly	Met	Glu	Ala	Tyr	Val	Lys

305 310 315 320
 Val Asp Ser Cys Pro Glu Glu Pro Gln Leu Arg Met Lys Asn Asn Glu
 325 330 335
 Asp Lys Asp Tyr Asp Asp Gly Leu Tyr Asp Ser Asp Met Asp Val Val
 340 345 350
 Ser Phe Asp Asp Asp Ser Ser Ser Pro Phe Ile Gln Ile Arg Ser Val
 355 360 365
 Ala Lys Lys His Pro Lys Thr Trp Val His Tyr Ile Ala Ala Glu Glu
 370 375 380
 Glu Asp Trp Asp Tyr Ala Pro Ser Gly Pro Thr Pro Asn Asp Arg Ser
 385 390 395 400
 His Lys Asn Leu Tyr Leu Asn Asn Gly Pro Gln Arg Ile Gly Lys Lys
 405 410 415
 Tyr Lys Lys Val Arg Phe Val Ala Tyr Thr Asp Glu Thr Phe Lys Thr
 420 425 430
 Arg Glu Ala Ile Gln Tyr Glu Ser Gly Ile Leu Gly Pro Leu Leu Tyr
 435 440 445
 Gly Glu Val Gly Asp Thr Leu Leu Ile Ile Phe Lys Asn Gln Ala Ser
 450 455 460
 Arg Pro Tyr Asn Ile Tyr Pro His Gly Ile Asn Tyr Val Thr Pro Leu
 465 470 475 480
 His Thr Gly Arg Leu Pro Lys Gly Val Lys His Leu Lys Asp Met Pro
 485 490 495
 Ile Leu Pro Gly Glu Ile Phe Lys Tyr Lys Trp Thr Val Thr Val Glu
 500 505 510
 Asp Gly Pro Thr Lys Ser Asp Pro Arg Cys Leu Thr Arg Tyr Tyr Ser
 515 520 525
 Ser Phe Ile Asn Leu Glu Arg Asp Leu Ala Ser Gly Leu Ile Gly Pro
 530 535 540
 Leu Leu Ile Cys Tyr Lys Glu Ser Val Asp Gln Arg Gly Asn Gln Met
 545 550 555 560
 Met Ser Asp Lys Arg Asn Val Ile Leu Phe Ser Val Phe Asp Glu Asn

				565					570					575			
Arg	Ser	Trp	Tyr 580	Leu	Thr	Glu	Asn	Met 585	Gln	Arg	Phe	Leu	Pro 590	Asn	Ala		
Asp	Val	Val 595	Gln	Pro	His	Asp	Pro 600	Glu	Phe	Gln	Leu	Ser 605	Asn	Ile	Met		
His	Ser 610	Ile	Asn	Gly	Tyr	Val 615	Phe	Asp	Asn	Leu	Gln 620	Leu	Ser	Val	Cys		
Leu 625	His	Glu	Val	Ala	Tyr 630	Trp	Tyr	Ile	Leu	Ser 635	Val	Gly	Ala	Gln	Thr 640		
Asp	Phe	Leu	Ser	Val 645	Phe	Phe	Ser	Gly	Tyr 650	Thr	Phe	Lys	His	Lys 655	Met		
Val	Tyr	Glu	Asp 660	Thr	Leu	Thr	Leu	Phe 665	Pro	Phe	Ser	Gly	Glu 670	Thr	Val		
Phe	Met	Ser 675	Met	Glu	Asn	Pro	Gly 680	Leu	Trp	Val	Leu	Gly 685	Cys	His	Asn		
Ser	Asp 690	Phe	Arg	Asn	Phe	Val 695	Ile	Ile	Ile	Asn	Arg 700	Gly	Met	Thr	Ala		
Leu 705	Leu	Lys	Val	Ser	Ser 710	Cys	Asn	Arg	Glu	Ile 715	Thr	Val	Thr	Thr	Leu 720		
Gln	Pro	Glu	Glu	Asp 725	Lys	Phe	Glu	Tyr	Asp 730	Asp	Thr	Phe	Ser	Ile 735	Glu		
Met	Lys	Arg	Glu 740	Asp	Phe	Asp	Ile	Tyr 745	Gly	Asp	Tyr	Glu	Asn 750	Gln	Gly		
Leu	Arg	Ser 755	Phe	Gln	Lys	Lys	Thr 760	Arg	His	Tyr	Phe	Ile 765	Ala	Ala	Val		
Glu	Arg 770	Leu	Trp	Asp	Tyr	Gly 775	Met	Ser	Arg	Ser	Pro 780	His	Ile	Leu	Arg		
Asn 785	Arg	Ala	Gln	Ser	Gly 790	Asp	Val	Gln	Gln	Phe 795	Lys	Lys	Val	Val	Phe 800		
Gln	Glu	Phe	Thr	Asp 805	Gly	Ser	Phe	Thr	Gln 810	Pro	Leu	Tyr	Arg	Gly 815	Glu		
Leu	Asn	Glu	His	Leu	Gly	Leu	Leu	Gly	Pro	Tyr	Ile	Arg	Ala	Glu	Val		

820	825	830		
Glu Asp Asn Ile Val Val Thr Phe Lys Asn Gln Ala Ser Arg Pro Tyr	835	840	845	
Ser Phe Tyr Ser Ser Leu Ile Ser Tyr Asp Glu Asp Glu Gly Gln Gly	850	855	860	
Ala Glu Pro Arg Arg Lys Phe Val Asn Pro Asn Glu Thr Lys Ile Tyr	865	870	875	880
Phe Trp Lys Val Gln His His Met Ala Pro Thr Lys Asp Glu Phe Asp	885	890	895	
Cys Lys Ala Trp Ala Tyr Phe Ser Asp Val Asp Leu Glu Lys Asp Val	900	905	910	
His Ser Gly Leu Ile Gly Pro Leu Leu Ile Cys Arg Ser Asn Thr Leu	915	920	925	
Asn Pro Ala His Gly Arg Gln Val Thr Val Gln Glu Phe Ala Leu Val	930	935	940	
Phe Thr Ile Phe Asp Glu Thr Lys Ser Trp Tyr Phe Thr Glu Asn Leu	945	950	955	960
Glu Arg Asn Cys Arg Ala Pro Cys Asn Val Gln Lys Glu Asp Pro Thr	965	970	975	
Leu Lys Glu Asn Phe Arg Phe His Ala Ile Asn Gly Tyr Val Lys Asp	980	985	990	
Thr Leu Pro Gly Leu Val Met Ala Gln Asp Gln Lys Val Arg Trp Tyr	995	1000	1005	
Leu Leu Ser Met Gly Ser Asn Glu Asn Ile His Ser Ile His Phe	1010	1015	1020	
Ser Gly His Val Phe Thr Val Arg Lys Lys Glu Glu Tyr Lys Met	1025	1030	1035	
Ala Val Tyr Asn Leu Tyr Pro Gly Val Phe Glu Thr Val Glu Met	1040	1045	1050	
Leu Pro Ser Gln Val Gly Ile Trp Arg Ile Glu Cys Leu Ile Gly	1055	1060	1065	
Glu His Leu Gln Ala Gly Met Ser Thr Leu Phe Leu Val Tyr Ser				

1070						1075					1080				
Lys	Lys	Cys	Gln	Thr	Pro	Leu	Gly	Met	Ala	Ser	Gly	His	Ile	Arg	
	1085					1090					1095				
Asp	Phe	Gln	Ile	Thr	Ala	Ser	Gly	Gln	Tyr	Gly	Gln	Trp	Ala	Pro	
	1100					1105					1110				
Lys	Leu	Ala	Arg	Leu	His	Tyr	Ser	Gly	Ser	Ile	Asn	Ala	Trp	Ser	
	1115					1120					1125				
Thr	Lys	Asp	Pro	Phe	Ser	Trp	Ile	Lys	Val	Asp	Leu	Leu	Ala	Pro	
	1130					1135					1140				
Met	Ile	Ile	His	Gly	Ile	Met	Thr	Gln	Gly	Ala	Arg	Gln	Lys	Phe	
	1145					1150					1155				
Ser	Ser	Leu	Tyr	Val	Ser	Gln	Phe	Ile	Ile	Met	Tyr	Ser	Leu	Asp	
	1160					1165					1170				
Gly	Asn	Lys	Trp	His	Ser	Tyr	Arg	Gly	Asn	Ser	Thr	Gly	Thr	Leu	
	1175					1180					1185				
Met	Val	Phe	Phe	Gly	Asn	Val	Asp	Ser	Ser	Gly	Ile	Lys	His	Asn	
	1190					1195					1200				
Ile	Phe	Asn	Pro	Pro	Ile	Ile	Ala	Gln	Tyr	Ile	Arg	Leu	His	Pro	
	1205					1210					1215				
Thr	His	Tyr	Ser	Ile	Arg	Ser	Thr	Leu	Arg	Met	Glu	Leu	Leu	Gly	
	1220					1225					1230				
Cys	Asp	Phe	Asn	Ser	Cys	Ser	Met	Pro	Leu	Gly	Met	Glu	Ser	Lys	
	1235					1240					1245				
Ala	Ile	Ser	Asp	Ala	Gln	Ile	Thr	Ala	Ser	Ser	Tyr	Leu	Ser	Ser	
	1250					1255					1260				
Met	Leu	Ala	Thr	Trp	Ser	Pro	Ser	Gln	Ala	Arg	Leu	His	Leu	Gln	
	1265					1270					1275				
Gly	Arg	Thr	Asn	Ala	Trp	Arg	Pro	Gln	Ala	Asn	Asn	Pro	Lys	Glu	
	1280					1285					1290				
Trp	Leu	Gln	Val	Asp	Phe	Arg	Lys	Thr	Met	Lys	Val	Thr	Gly	Ile	
	1295					1300					1305				
Thr	Thr	Gln	Gly	Val	Lys	Ser	Leu	Leu	Ile	Ser	Met	Tyr	Val	Lys	

1310 1315 1320
 Glu Phe Leu Ile Ser Ser Ser Gln Asp Gly His Asn Trp Thr Leu
 1325 1330 1335
 Phe Leu Gln Asn Gly Lys Val Lys Val Phe Gln Gly Asn Arg Asp
 1340 1345 1350
 Ser Ser Thr Pro Val Arg Asn Arg Leu Glu Pro Pro Leu Val Ala
 1355 1360 1365
 Arg Tyr Val Arg Leu His Pro Gln Ser Trp Ala His His Ile Ala
 1370 1375 1380
 Leu Arg Leu Glu Val Leu Gly Cys Asp Thr Gln Gln Pro Ala
 1385 1390 1395

 <210> 4
 <211> 24
 <212> PRT
 <213> sus scrofa

 <400> 4
 Ser Phe Ala Gln Asn Ser Arg Pro Pro Ser Ala Ser Ala Pro Lys Pro
 1 5 10 15

 Pro Val Leu Arg Arg His Gln Arg
 20

 <210> 5
 <211> 24
 <212> PRT
 <213> homo sapiens

 <400> 5
 Ser Phe Ser Gln Asn Ser Arg His Pro Ser Thr Arg Ser Gln Asn Pro
 1 5 10 15

 Pro Val Leu Lys Arg His Gln Arg
 20

 <210> 6
 <211> 24
 <212> PRT
 <213> Canis familiaris

 <400> 6
 Ser Phe Ser Gln Asn Ser Arg His Pro Ser Thr Lys Ser Gln Asn Pro
 1 5 10 15

Pro Val Ser Lys His His Gln Arg
20

<210> 7
<211> 2114
<212> PRT
<213> Sus scrofa

<400> 7

Ala Ile Arg Arg Tyr Tyr Leu Gly Ala Val Glu Leu Ser Trp Asp Tyr
1 5 10 15

Arg Gln Ser Glu Leu Leu Arg Glu Leu His Val Asp Thr Arg Phe Pro
20 25 30

Ala Thr Ala Pro Gly Ala Leu Pro Leu Gly Pro Ser Val Leu Tyr Lys
35 40 45

Lys Thr Val Phe Val Glu Phe Thr Asp Gln Leu Phe Ser Val Ala Arg
50 55 60

Pro Arg Pro Pro Trp Met Gly Leu Leu Gly Pro Thr Ile Gln Ala Glu
65 70 75 80

Val Tyr Asp Thr Val Val Val Thr Leu Lys Asn Met Ala Ser His Pro
85 90 95

Val Ser Leu His Ala Val Gly Val Ser Phe Trp Lys Ser Ser Glu Gly
100 105 110

Ala Glu Tyr Glu Asp His Thr Ser Gln Arg Glu Lys Glu Asp Asp Lys
115 120 125

Val Leu Pro Gly Lys Ser Gln Thr Tyr Val Trp Gln Val Leu Lys Glu
130 135 140

Asn Gly Pro Thr Ala Ser Asp Pro Pro Cys Leu Thr Tyr Ser Tyr Leu
145 150 155 160

Ser His Val Asp Leu Val Lys Asp Leu Asn Ser Gly Leu Ile Gly Ala
165 170 175

Leu Leu Val Cys Arg Glu Gly Ser Leu Thr Arg Glu Arg Thr Gln Asn
180 185 190

Leu His Glu Phe Val Leu Leu Phe Ala Val Phe Asp Glu Gly Lys Ser
195 200 205

Trp His Ser Ala Arg Asn Asp Ser Trp Thr Arg Ala Met Asp Pro Ala

210	215	220
Pro Ala Arg Ala Gln 225	Pro Ala Met His Thr 230	Val Asn Gly Tyr Val Asn 235 240
Arg Ser Leu Pro Gly 245	Leu Ile Gly Cys His 250	Lys Lys Ser Val Tyr Trp 255
His Val Ile Gly Met Gly Thr Ser 260	Pro Glu Val His Ser Ile Phe Leu 265 270	
Glu Gly His Thr Phe Leu Val 275	Arg His His Arg Gln Ala Ser Leu Glu 280 285	
Ile Ser Pro Leu Thr Phe Leu Thr Ala Gln Thr Phe Leu Met Asp Leu 290 295 300		
Gly Gln Phe Leu Leu Phe Cys His Ile Ser Ser His His His Gly Gly 305 310 315 320		
Met Glu Ala His Val Arg Val Glu Ser Cys Ala Glu Glu Pro Gln Leu 325 330 335		
Arg Arg Lys Ala Asp Glu Glu Glu Asp Tyr Asp Asp Asn Leu Tyr Asp 340 345 350		
Ser Asp Met Asp Val Val Arg Leu Asp Gly Asp Asp Val Ser Pro Phe 355 360 365		
Ile Gln Ile Arg Ser Val Ala Lys Lys His Pro Lys Thr Trp Val His 370 375 380		
Tyr Ile Ser Ala Glu Glu Glu Asp Trp Asp Tyr Ala Pro Ala Val Pro 385 390 395 400		
Ser Pro Ser Asp Arg Ser Tyr Lys Ser Leu Tyr Leu Asn Ser Gly Pro 405 410 415		
Gln Arg Ile Gly Arg Lys Tyr Lys Lys Ala Arg Phe Val Ala Tyr Thr 420 425 430		
Asp Val Thr Phe Lys Thr Arg Lys Ala Ile Pro Tyr Glu Ser Gly Ile 435 440 445		
Leu Gly Pro Leu Leu Tyr Gly Glu Val Gly Asp Thr Leu Leu Ile Ile 450 455 460		
Phe Lys Asn Lys Ala Ser Arg Pro Tyr Asn Ile Tyr Pro His Gly Ile		

465 470 475 480
 Thr Asp Val Ser Ala Leu His Pro Gly Arg Leu Leu Lys Gly Trp Lys
 485 490 495
 His Leu Lys Asp Met Pro Ile Leu Pro Gly Glu Thr Phe Lys Tyr Lys
 500 505 510
 Trp Thr Val Thr Val Glu Asp Gly Pro Thr Lys Ser Asp Pro Arg Cys
 515 520 525
 Leu Thr Arg Tyr Tyr Ser Ser Ser Ile Asn Leu Glu Lys Asp Leu Ala
 530 535 540
 Ser Gly Leu Ile Gly Pro Leu Leu Ile Cys Tyr Lys Glu Ser Val Asp
 545 550 555 560
 Gln Arg Gly Asn Gln Met Met Ser Asp Lys Arg Asn Val Ile Leu Phe
 565 570 575
 Ser Val Phe Asp Glu Asn Gln Ser Trp Tyr Leu Ala Glu Asn Ile Gln
 580 585 590
 Arg Phe Leu Pro Asn Pro Asp Gly Leu Gln Pro Gln Asp Pro Glu Phe
 595 600 605
 Gln Ala Ser Asn Ile Met His Ser Ile Asn Gly Tyr Val Phe Asp Ser
 610 615 620
 Leu Gln Leu Ser Val Cys Leu His Glu Val Ala Tyr Trp Tyr Ile Leu
 625 630 635 640
 Ser Val Gly Ala Gln Thr Asp Phe Leu Ser Val Phe Phe Ser Gly Tyr
 645 650 655
 Thr Phe Lys His Lys Met Val Tyr Glu Asp Thr Leu Thr Leu Phe Pro
 660 665 670
 Phe Ser Gly Glu Thr Val Phe Met Ser Met Glu Asn Pro Gly Leu Trp
 675 680 685
 Val Leu Gly Cys His Asn Ser Asp Leu Arg Asn Arg Gly Met Thr Ala
 690 695 700
 Leu Leu Lys Val Tyr Ser Cys Asp Arg Asp Ile Gly Asp Tyr Tyr Asp
 705 710 715 720
 Asn Thr Tyr Glu Asp Ile Pro Gly Phe Leu Leu Ser Gly Lys Asn Val

725										730					735				
Ile	Glu	Pro	Arg	Ser	Phe	Ala	Gln	Asn	Ser	Arg	Pro	Pro	Ser	Ala	Ser				
			740					745					750						
Gln	Lys	Gln	Phe	Gln	Thr	Ile	Thr	Ser	Pro	Glu	Asp	Asp	Val	Glu	Leu				
		755					760					765							
Asp	Pro	Gln	Ser	Gly	Glu	Arg	Thr	Gln	Ala	Leu	Glu	Glu	Leu	Ser	Val				
	770					775					780								
Pro	Ser	Gly	Asp	Gly	Ser	Met	Leu	Leu	Gly	Gln	Asn	Pro	Ala	Pro	His				
785					790					795					800				
Gly	Ser	Ser	Ser	Ser	Asp	Leu	Gln	Glu	Ala	Arg	Asn	Glu	Ala	Asp	Asp				
				805					810					815					
Tyr	Leu	Pro	Gly	Ala	Arg	Glu	Arg	Asn	Thr	Ala	Pro	Ser	Ala	Ala	Ala				
			820					825					830						
Arg	Leu	Arg	Pro	Glu	Leu	His	His	Ser	Ala	Glu	Arg	Val	Leu	Thr	Pro				
		835					840					845							
Glu	Pro	Glu	Lys	Glu	Leu	Lys	Lys	Leu	Asp	Ser	Lys	Met	Ser	Ser	Ser				
	850					855					860								
Ser	Asp	Leu	Leu	Lys	Thr	Ser	Pro	Thr	Ile	Pro	Ser	Asp	Thr	Leu	Ser				
865					870					875					880				
Ala	Glu	Thr	Glu	Arg	Thr	His	Ser	Leu	Gly	Pro	Pro	His	Pro	Gln	Val				
				885					890					895					
Asn	Phe	Arg	Ser	Gln	Leu	Gly	Ala	Ile	Val	Leu	Gly	Lys	Asn	Ser	Ser				
			900					905					910						
His	Phe	Ile	Gly	Ala	Gly	Val	Pro	Leu	Gly	Ser	Thr	Glu	Glu	Asp	His				
		915					920					925							
Glu	Ser	Ser	Leu	Gly	Glu	Asn	Val	Ser	Pro	Val	Glu	Ser	Asp	Gly	Ile				
	930					935					940								
Phe	Glu	Lys	Glu	Arg	Ala	His	Gly	Pro	Ala	Ser	Leu	Thr	Lys	Asp	Asp				
945					950					955					960				
Val	Leu	Phe	Lys	Val	Asn	Ile	Ser	Leu	Val	Lys	Thr	Asn	Lys	Ala	Arg				
				965					970					975					
Val	Tyr	Leu	Lys	Thr	Asn	Arg	Lys	Ile	His	Ile	Asp	Asp	Ala	Ala	Leu				

980					985					990					
Leu	Thr	Glu	Asn	Arg	Ala	Ser	Ala	Thr	Phe	Met	Asp	Lys	Asn	Thr	Thr
		995					1000					1005			
Ala	Ser	Gly	Leu	Asn	His	Val	Ser	Asn	Trp	Ile	Lys	Gly	Pro	Leu	
	1010					1015					1020				
Gly	Lys	Asn	Pro	Leu	Ser	Ser	Glu	Arg	Gly	Pro	Ser	Pro	Glu	Leu	
	1025					1030					1035				
Leu	Thr	Ser	Ser	Gly	Ser	Gly	Lys	Ser	Val	Lys	Gly	Gln	Ser	Ser	
	1040					1045					1050				
Gly	Gln	Gly	Arg	Ile	Arg	Val	Ala	Val	Glu	Glu	Glu	Glu	Leu	Ser	
	1055					1060					1065				
Lys	Gly	Lys	Glu	Met	Met	Leu	Pro	Asn	Ser	Glu	Leu	Thr	Phe	Leu	
	1070					1075					1080				
Thr	Asn	Ser	Ala	Asp	Val	Gln	Gly	Asn	Asp	Thr	His	Ser	Gln	Gly	
	1085					1090					1095				
Lys	Lys	Ser	Arg	Glu	Glu	Met	Glu	Arg	Arg	Glu	Lys	Leu	Val	Gln	
	1100					1105					1110				
Glu	Lys	Val	Asp	Leu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Ala	Thr	Gly	Thr	Lys	
	1115					1120					1125				
Asn	Phe	Leu	Arg	Asn	Ile	Phe	His	Gln	Ser	Thr	Glu	Pro	Ser	Val	
	1130					1135					1140				
Glu	Gly	Phe	Asp	Gly	Gly	Ser	His	Ala	Pro	Val	Pro	Gln	Asp	Ser	
	1145					1150					1155				
Arg	Ser	Leu	Asn	Asp	Ser	Ala	Glu	Arg	Ala	Glu	Thr	His	Ile	Ala	
	1160					1165					1170				
His	Phe	Ser	Ala	Ile	Arg	Glu	Glu	Ala	Pro	Leu	Glu	Ala	Pro	Gly	
	1175					1180					1185				
Asn	Arg	Thr	Gly	Pro	Gly	Pro	Arg	Ser	Ala	Val	Pro	Arg	Arg	Val	
	1190					1195					1200				
Lys	Gln	Ser	Leu	Lys	Gln	Ile	Arg	Leu	Pro	Leu	Glu	Glu	Ile	Lys	
	1205					1210					1215				
Pro	Glu	Arg	Gly	Val	Val	Leu	Asn	Ala	Thr	Ser	Thr	Arg	Trp	Ser	

1220	1225	1230
Glu Ser 1235	Ser Pro Ile Leu Gln 1240	Gly Ala Lys Arg Asn 1245
Asn Asn Leu Ser		
Leu Pro 1250	Phe Leu Thr Leu Glu 1255	Met Ala Gly Gly Gln 1260
Gly Lys Ile		
Ser Ala 1265	Leu Gly Lys Ser Ala 1270	Ala Gly Pro Leu Ala 1275
Ser Gly Lys		
Leu Glu 1280	Lys Ala Val Leu Ser 1285	Ser Ala Gly Leu Ser 1290
Glu Ala Ser		
Gly Lys 1295	Ala Glu Phe Leu Pro 1300	Lys Val Arg Val His 1305
Arg Glu Asp		
Leu Leu 1310	Pro Gln Lys Thr Ser 1315	Asn Val Ser Cys Ala 1320
His Gly Asp		
Leu Gly 1325	Gln Glu Ile Phe Leu 1330	Gln Lys Thr Arg Gly 1335
Pro Val Asn		
Leu Asn 1340	Lys Val Asn Arg Pro 1345	Gly Arg Thr Pro Ser 1350
Lys Leu Leu		
Gly Pro 1355	Pro Met Pro Lys Glu 1360	Trp Glu Ser Leu Glu 1365
Lys Ser Pro		
Lys Ser 1370	Thr Ala Leu Arg Thr 1375	Lys Asp Ile Ile Ser 1380
Leu Pro Leu		
Asp Arg 1385	His Glu Ser Asn His 1390	Ser Ile Ala Ala Lys 1395
Asn Glu Gly		
Gln Ala 1400	Glu Thr Gln Arg Glu 1405	Ala Ala Trp Thr Lys 1410
Gln Gly Gly		
Pro Gly 1415	Arg Leu Cys Ala Pro 1420	Lys Pro Pro Val Leu 1425
Arg Arg His		
Gln Arg 1430	Asp Ile Ser Leu Pro 1435	Thr Phe Gln Pro Glu 1440
Glu Asp Lys		
Met Asp 1445	Tyr Asp Asp Ile Phe 1450	Ser Thr Glu Thr Lys 1455
Gly Glu Asp		
Phe Asp	Ile Tyr Gly Glu Asp	Glu Asn Gln Asp Pro
Arg Ser Phe		

1460		1465		1470
Gln Lys Arg Thr Arg His Tyr Phe Ile Ala Ala Val Glu Gln Leu	1475	1480	1485	
Trp Asp Tyr Gly Met Ser Glu Ser Pro Arg Ala Leu Arg Asn Arg	1490	1495	1500	
Ala Gln Asn Gly Glu Val Pro Arg Phe Lys Lys Val Val Phe Arg	1505	1510	1515	
Glu Phe Ala Asp Gly Ser Phe Thr Gln Pro Ser Tyr Arg Gly Glu	1520	1525	1530	
Leu Asn Lys His Leu Gly Leu Leu Gly Pro Tyr Ile Arg Ala Glu	1535	1540	1545	
Val Glu Asp Asn Ile Met Val Thr Phe Lys Asn Gln Ala Ser Arg	1550	1555	1560	
Pro Tyr Ser Phe Tyr Ser Ser Leu Ile Ser Tyr Pro Asp Asp Gln	1565	1570	1575	
Glu Gln Gly Ala Glu Pro Arg His Asn Phe Val Gln Pro Asn Glu	1580	1585	1590	
Thr Arg Thr Tyr Phe Trp Lys Val Gln His His Met Ala Pro Thr	1595	1600	1605	
Glu Asp Glu Phe Asp Cys Lys Ala Trp Ala Tyr Phe Ser Asp Val	1610	1615	1620	
Asp Leu Glu Lys Asp Val His Ser Gly Leu Ile Gly Pro Leu Leu	1625	1630	1635	
Ile Cys Arg Ala Asn Thr Leu Asn Ala Ala His Gly Arg Gln Val	1640	1645	1650	
Thr Val Gln Glu Phe Ala Leu Phe Phe Thr Ile Phe Asp Glu Thr	1655	1660	1665	
Lys Ser Trp Tyr Phe Thr Glu Asn Val Glu Arg Asn Cys Arg Ala	1670	1675	1680	
Pro Cys His Leu Gln Met Glu Asp Pro Thr Leu Lys Glu Asn Tyr	1685	1690	1695	
Arg Phe His Ala Ile Asn Gly Tyr Val Met Asp Thr Leu Pro Gly				

1700		1705		1710
Leu Val 1715	Met Ala Gln Asn	Gln 1720	Arg Ile Arg Trp	Tyr 1725
Met Gly 1730	Ser Asn Glu Asn	Ile 1735	His Ser Ile His	Phe 1740
Val Phe 1745	Ser Val Arg Lys	Lys 1750	Glu Glu Tyr Lys	Met 1755
Asn Leu 1760	Tyr Pro Gly Val	Phe 1765	Glu Thr Val Glu	Met 1770
Lys Val 1775	Gly Ile Trp Arg	Ile 1780	Glu Cys Leu Ile	Gly 1785
Gln Ala 1790	Gly Met Ser Thr	Thr 1795	Phe Leu Val Tyr	Ser 1800
Gln Ala 1805	Pro Leu Gly Met	Ala 1810	Ser Gly Arg Ile	Arg 1815
Ile Thr 1820	Ala Ser Gly Gln	Tyr 1825	Gly Gln Trp Ala	Pro 1830
Arg Leu 1835	His Tyr Ser Gly	Ser 1840	Ile Asn Ala Trp	Ser 1845
Pro His 1850	Ser Trp Ile Lys	Val 1855	Asp Leu Leu Ala	Pro 1860
His Gly 1865	Ile Met Thr Gln	Gly 1870	Ala Arg Gln Lys	Phe 1875
Tyr Ile 1880	Ser Gln Phe Ile	Ile 1885	Met Tyr Ser Leu	Asp 1890
Trp Gln 1895	Ser Tyr Arg Gly	Asn 1900	Ser Thr Gly Thr	Leu 1905
Phe Gly 1910	Asn Val Asp Ala	Ser 1915	Gly Ile Lys His	Asn 1920
Pro Pro 1925	Ile Val Ala Arg	Tyr 1930	Ile Arg Leu His	Pro 1935
ser Ile	Arg Ser Thr Leu Arg	Met Glu Leu Met Gly	Cys Asp Leu	

1940	1945	1950
Asn Ser 1955 Cys Ser Met Pro	Leu 1960 Gly Met Gln Asn	Lys 1965 Ala Ile Ser
Asp Ser 1970 Gln Ile Thr Ala	Ser 1975 Ser His Leu Ser	Asn 1980 Ile Phe Ala
Thr Trp 1985 Ser Pro Ser Gln	Ala 1990 Arg Leu His Leu	Gln 1995 Gly Arg Thr
Asn Ala 2000 Trp Arg Pro Arg	Val 2005 Ser Ser Ala Glu	Glu 2010 Trp Leu Gln
Val Asp 2015 Leu Gln Lys Thr	Val 2020 Lys Val Thr Gly	Ile 2025 Thr Thr Gln
Gly Val 2030 Lys Ser Leu Leu	Ser 2035 Ser Met Tyr Val	Lys 2040 Glu Phe Leu
Val Ser 2045 Ser Ser Gln Asp	Gly 2050 Arg Arg Trp Thr	Leu 2055 Phe Leu Gln
Asp Gly 2060 His Thr Lys Val	Phe 2065 Gln Gly Asn Gln	Asp 2070 Ser Ser Thr
Pro Val 2075 Val Asn Ala Leu	Asp 2080 Pro Pro Leu Phe	Thr 2085 Arg Tyr Leu
Arg Ile 2090 His Pro Thr Ser	Trp 2095 Ala Gln His Ile	Ala 2100 Leu Arg Leu
Glu Val 2105 Leu Gly Cys Glu	Ala 2110 Gln Asp Leu Tyr	
<210> 8		
<211> 2332		
<212> PRT		
<213> homo sapiens		
<400> 8		
Ala Thr Arg Arg Tyr Tyr Leu Gly Ala Val Glu Leu Ser Trp Asp Tyr	1 5 10 15	
Met Gln Ser Asp Leu Gly Glu Leu Pro Val Asp Ala Arg Phe Pro Pro	20 25 30	
Arg Val Pro Lys Ser Phe Pro Phe Asn Thr Ser Val Val Tyr Lys Lys	35 40 45	

Thr Leu Phe Val Glu Phe Thr Asp His Leu Phe Asn Ile Ala Lys Pro
 50 55 60
 Arg Pro Pro Trp Met Gly Leu Leu Gly Pro Thr Ile Gln Ala Glu Val
 65 70 75 80
 Tyr Asp Thr Val Val Ile Thr Leu Lys Asn Met Ala Ser His Pro Val
 85 90 95
 Ser Leu His Ala Val Gly Val Ser Tyr Trp Lys Ala Ser Glu Gly Ala
 100 105 110
 Glu Tyr Asp Asp Gln Thr Ser Gln Arg Glu Lys Glu Asp Asp Lys Val
 115 120 125
 Phe Pro Gly Gly Ser His Thr Tyr Val Trp Gln Val Leu Lys Glu Asn
 130 135 140
 Gly Pro Met Ala Ser Asp Pro Leu Cys Leu Thr Tyr Ser Tyr Leu Ser
 145 150 155 160
 His Val Asp Leu Val Lys Asp Leu Asn Ser Gly Leu Ile Gly Ala Leu
 165 170 175
 Leu Val Cys Arg Glu Gly Ser Leu Ala Lys Glu Lys Thr Gln Thr Leu
 180 185 190
 His Lys Phe Ile Leu Leu Phe Ala Val Phe Asp Glu Gly Lys Ser Trp
 195 200 205
 His Ser Glu Thr Lys Asn Ser Leu Met Gln Asp Arg Asp Ala Ala Ser
 210 215 220
 Ala Arg Ala Trp Pro Lys Met His Thr Val Asn Gly Tyr Val Asn Arg
 225 230 235 240
 Ser Leu Pro Gly Leu Ile Gly Cys His Arg Lys Ser Val Tyr Trp His
 245 250 255
 Val Ile Gly Met Gly Thr Thr Pro Glu Val His Ser Ile Phe Leu Glu
 260 265 270
 Gly His Thr Phe Leu Val Arg Asn His Arg Gln Ala Ser Leu Glu Ile
 275 280 285
 Ser Pro Ile Thr Phe Leu Thr Ala Gln Thr Leu Leu Met Asp Leu Gly
 290 295 300

Gln Phe Leu Leu Phe Cys His Ile Ser Ser His Gln His Asp Gly Met
 305 310 315 320
 Glu Ala Tyr Val Lys Val Asp Ser Cys Pro Glu Glu Pro Gln Leu Arg
 325 330 335
 Met Lys Asn Asn Glu Glu Ala Glu Asp Tyr Asp Asp Asp Leu Thr Asp
 340 345 350
 Ser Glu Met Asp Val Val Arg Phe Asp Asp Asp Asn Ser Pro Ser Phe
 355 360 365
 Ile Gln Ile Arg Ser Val Ala Lys Lys His Pro Lys Thr Trp Val His
 370 375 380
 Tyr Ile Ala Ala Glu Glu Glu Asp Trp Asp Tyr Ala Pro Leu Val Leu
 385 390 395 400
 Ala Pro Asp Asp Arg Ser Tyr Lys Ser Gln Tyr Leu Asn Asn Gly Pro
 405 410 415
 Gln Arg Ile Gly Arg Lys Tyr Lys Lys Val Arg Phe Met Ala Tyr Thr
 420 425 430
 Asp Glu Thr Phe Lys Thr Arg Glu Ala Ile Gln His Glu Ser Gly Ile
 435 440 445
 Leu Gly Pro Leu Leu Tyr Gly Glu Val Gly Asp Thr Leu Leu Ile Ile
 450 455 460
 Phe Lys Asn Gln Ala Ser Arg Pro Tyr Asn Ile Tyr Pro His Gly Ile
 465 470 475 480
 Thr Asp Val Arg Pro Leu Tyr Ser Arg Arg Leu Pro Lys Gly Val Lys
 485 490 495
 His Leu Lys Asp Phe Pro Ile Leu Pro Gly Glu Ile Phe Lys Tyr Lys
 500 505 510
 Trp Thr Val Thr Val Glu Asp Gly Pro Thr Lys Ser Asp Pro Arg Cys
 515 520 525
 Leu Thr Arg Tyr Tyr Ser Ser Phe Val Asn Met Glu Arg Asp Leu Ala
 530 535 540
 Ser Gly Leu Ile Gly Pro Leu Leu Ile Cys Tyr Lys Glu Ser Val Asp
 545 550 555 560

Gln Arg Gly Asn Gln Ile Met Ser Asp Lys Arg Asn Val Ile Leu Phe
 565 570 575
 Ser Val Phe Asp Glu Asn Arg Ser Trp Tyr Leu Thr Glu Asn Ile Gln
 580 585 590
 Arg Phe Leu Pro Asn Pro Ala Gly Val Gln Leu Glu Asp Pro Glu Phe
 595 600 605
 Gln Ala Ser Asn Ile Met His Ser Ile Asn Gly Tyr Val Phe Asp Ser
 610 615 620
 Leu Gln Leu Ser Val Cys Leu His Glu Val Ala Tyr Trp Tyr Ile Leu
 625 630 635 640
 Ser Ile Gly Ala Gln Thr Asp Phe Leu Ser Val Phe Phe Ser Gly Tyr
 645 650 655
 Thr Phe Lys His Lys Met Val Tyr Glu Asp Thr Leu Thr Leu Phe Pro
 660 665 670
 Phe Ser Gly Glu Thr Val Phe Met Ser Met Glu Asn Pro Gly Leu Trp
 675 680 685
 Ile Leu Gly Cys His Asn Ser Asp Phe Arg Asn Arg Gly Met Thr Ala
 690 695 700
 Leu Leu Lys Val Ser Ser Cys Asp Lys Asn Thr Gly Asp Tyr Tyr Glu
 705 710 715 720
 Asp Ser Tyr Glu Asp Ile Ser Ala Tyr Leu Leu Ser Lys Asn Asn Ala
 725 730 735
 Ile Glu Pro Arg Ser Phe Ser Gln Asn Ser Arg His Pro Ser Thr Arg
 740 745 750
 Gln Lys Gln Phe Asn Ala Thr Thr Ile Pro Glu Asn Asp Ile Glu Lys
 755 760 765
 Thr Asp Pro Trp Phe Ala His Arg Thr Pro Met Pro Lys Ile Gln Asn
 770 775 780
 Val Ser Ser Ser Asp Leu Leu Met Leu Leu Arg Gln Ser Pro Thr Pro
 785 790 795 800
 His Gly Leu Ser Leu Ser Asp Leu Gln Glu Ala Lys Tyr Glu Thr Phe
 805 810 815

Ser Asp Asp Pro Ser Pro Gly Ala Ile Asp Ser Asn Asn Ser Leu Ser
 820 825 830

Glu Met Thr His Phe Arg Pro Gln Leu His His Ser Gly Asp Met Val
 835 840 845

Phe Thr Pro Glu Ser Gly Leu Gln Leu Arg Leu Asn Glu Lys Leu Gly
 850 855 860

Thr Thr Ala Ala Thr Glu Leu Lys Lys Leu Asp Phe Lys Val Ser Ser
 865 870 875 880

Thr Ser Asn Asn Leu Ile Ser Thr Ile Pro Ser Asp Asn Leu Ala Ala
 885 890

Gly Thr Asp Asn Thr Ser Ser Leu Gly Pro Pro Ser Met Pro Val His
 900 905 910

Tyr Asp Ser Gln Leu Asp Thr Thr Leu Phe Gly Lys Lys Ser Ser Pro
 915 920 925

Leu Thr Glu Ser Gly Gly Pro Leu Ser Leu Ser Glu Glu Asn Asn Asp
 930 935 940

Ser Lys Leu Leu Glu Ser Gly Leu Met Asn Ser Gln Glu Ser Ser Trp
 945 950 955 960

Gly Lys Asn Val Ser Ser Thr Glu Ser Gly Arg Leu Phe Lys Gly Lys
 965 970 975

Arg Ala His Gly Pro Ala Leu Leu Thr Lys Asp Asn Ala Leu Phe Lys
 980 985 990

Val Ser Ile Ser Leu Leu Lys Thr Asn Lys Thr Ser Asn Asn Ser Ala
 995 1000 1005

Thr Asn Arg Lys Thr His Ile Asp Gly Pro Ser Leu Leu Ile Glu
 1010 1015 1020

Asn Ser Pro Ser Val Trp Gln Asn Ile Leu Glu Ser Asp Thr Glu
 1025 1030 1035

Phe Lys Lys Val Thr Pro Leu Ile His Asp Arg Met Leu Met Asp
 1040 1045 1050

Lys Asn Ala Thr Ala Leu Arg Leu Asn His Met Ser Asn Lys Thr
 1055 1060 1065

Thr	Ser 1070	Ser	Lys	Asn	Met	Glu 1075	Met	Val	Gln	Gln	Lys 1080	Lys	Glu	Gly
Pro	Ile 1085	Pro	Pro	Asp	Ala	Gln 1090	Asn	Pro	Asp	Met	Ser 1095	Phe	Phe	Lys
Met	Leu 1100	Phe	Leu	Pro	Glu	Ser 1105	Ala	Arg	Trp	Ile	Gln 1110	Arg	Thr	His
Gly	Lys 1115	Asn	Ser	Leu	Asn	Ser 1120	Gly	Gln	Gly	Pro	Ser 1125	Pro	Lys	Gln
Leu	Val 1130	Ser	Leu	Gly	Pro	Glu 1135	Lys	Ser	Val	Glu	Gly 1140	Gln	Asn	Phe
Leu	Ser 1145	Glu	Lys	Asn	Lys	Val 1150	Val	Val	Gly	Lys	Gly 1155	Glu	Phe	Thr
Lys	Asp 1160	Val	Gly	Leu	Lys	Glu 1165	Met	Val	Phe	Pro	Ser 1170	Ser	Arg	Asn
Leu	Phe 1175	Leu	Thr	Asn	Leu	Asp 1180	Asn	Leu	His	Glu	Asn 1185	Asn	Thr	His
Asn	Gln 1190	Glu	Lys	Lys	Ile	Gln 1195	Glu	Glu	Ile	Glu	Lys 1200	Lys	Glu	Thr
Leu	Ile 1205	Gln	Glu	Asn	Val	Val 1210	Leu	Pro	Gln	Ile	His 1215	Thr	Val	Thr
Gly	Thr 1220	Lys	Asn	Phe	Met	Lys 1225	Asn	Leu	Phe	Leu	Leu 1230	Ser	Thr	Arg
Gln	Asn 1235	Val	Glu	Gly	Ser	Tyr 1240	Asp	Gly	Ala	Tyr	Ala 1245	Pro	Val	Leu
Gln	Asp 1250	Phe	Arg	Ser	Leu	Asn 1255	Asp	Ser	Thr	Asn	Arg 1260	Thr	Lys	Lys
His	Thr 1265	Ala	His	Phe	Ser	Lys 1270	Lys	Gly	Glu	Glu	Glu 1275	Asn	Leu	Glu
Gly	Leu 1280	Gly	Asn	Gln	Thr	Lys 1285	Gln	Ile	Val	Glu	Lys 1290	Tyr	Ala	Cys
Thr	Thr 1295	Arg	Ile	Ser	Pro	Asn 1300	Thr	Ser	Gln	Gln	Asn 1305	Phe	Val	Thr

Gln Arg Ser Lys Arg Ala Leu Lys Gln Phe Arg Leu Pro Leu Glu
 1310 1315 1320
 Glu Thr Glu Leu Glu Lys Arg Ile Ile Val Asp Asp Thr Ser Thr
 1325 1330 1335
 Gln Trp Ser Lys Asn Met Lys His Leu Thr Pro Ser Thr Leu Thr
 1340 1345 1350
 Gln Ile Asp Tyr Asn Glu Lys Glu Lys Gly Ala Ile Thr Gln Ser
 1355 1360 1365
 Pro Leu Ser Asp Cys Leu Thr Arg Ser His Ser Ile Pro Gln Ala
 1370 1375 1380
 Asn Arg Ser Pro Leu Pro Ile Ala Lys Val Ser Ser Phe Pro Ser
 1385 1390 1395
 Ile Arg Pro Ile Tyr Leu Thr Arg Val Leu Phe Gln Asp Asn Ser
 1400 1405 1410
 Ser His Leu Pro Ala Ala Ser Tyr Arg Lys Lys Asp Ser Gly Val
 1415 1420 1425
 Gln Glu Ser Ser His Phe Leu Gln Gly Ala Lys Lys Asn Asn Leu
 1430 1435 1440
 Ser Leu Ala Ile Leu Thr Leu Glu Met Thr Gly Asp Gln Arg Glu
 1445 1450 1455
 Val Gly Ser Leu Gly Thr Ser Ala Thr Asn Ser Val Thr Tyr Lys
 1460 1465 1470
 Lys Val Glu Asn Thr Val Leu Pro Lys Pro Asp Leu Pro Lys Thr
 1475 1480 1485
 Ser Gly Lys Val Glu Leu Leu Pro Lys Val His Ile Tyr Gln Lys
 1490 1495 1500
 Asp Leu Phe Pro Thr Glu Thr Ser Asn Gly Ser Pro Gly His Leu
 1505 1510 1515
 Asp Leu Val Glu Gly Ser Leu Leu Gln Gly Thr Glu Gly Ala Ile
 1520 1525 1530
 Lys Trp Asn Glu Ala Asn Arg Pro Gly Lys Val Pro Phe Leu Arg
 1535 1540 1545

Val	Ala	Thr	Glu	Ser	Ser	Ala	Lys	Thr	Pro	Ser	Lys	Leu	Leu	Asp
	1550					1555					1560			
Pro	Leu	Ala	Trp	Asp	Asn	His	Tyr	Gly	Thr	Gln	Ile	Pro	Lys	Glu
	1565					1570					1575			
Glu	Trp	Lys	Ser	Gln	Glu	Lys	Ser	Pro	Glu	Lys	Thr	Ala	Phe	Lys
	1580					1585					1590			
Lys	Lys	Asp	Thr	Ile	Leu	Ser	Leu	Asn	Ala	Cys	Glu	Ser	Asn	His
	1595					1600					1605			
Ala	Ile	Ala	Ala	Ile	Asn	Glu	Gly	Gln	Asn	Lys	Pro	Glu	Ile	Glu
	1610					1615					1620			
Val	Thr	Trp	Ala	Lys	Gln	Gly	Arg	Thr	Glu	Arg	Leu	Cys	Ser	Gln
	1625					1630					1635			
Asn	Pro	Pro	Val	Leu	Lys	Arg	His	Gln	Arg	Glu	Ile	Thr	Arg	Thr
	1640					1645					1650			
Thr	Leu	Gln	Ser	Asp	Gln	Glu	Glu	Ile	Asp	Tyr	Asp	Asp	Thr	Ile
	1655					1660					1665			
Ser	Val	Glu	Met	Lys	Lys	Glu	Asp	Phe	Asp	Ile	Tyr	Asp	Glu	Asp
	1670					1675					1680			
Glu	Asn	Gln	Ser	Pro	Arg	Ser	Phe	Gln	Lys	Lys	Thr	Arg	His	Tyr
	1685					1690					1695			
Phe	Ile	Ala	Ala	Val	Glu	Arg	Leu	Trp	Asp	Tyr	Gly	Met	Ser	Ser
	1700					1705					1710			
Ser	Pro	His	Val	Leu	Arg	Asn	Arg	Ala	Gln	Ser	Gly	Ser	Val	Pro
	1715					1720					1725			
Gln	Phe	Lys	Lys	Val	Val	Phe	Gln	Glu	Phe	Thr	Asp	Gly	Ser	Phe
	1730					1735					1740			
Thr	Gln	Pro	Leu	Tyr	Arg	Gly	Glu	Leu	Asn	Glu	His	Leu	Gly	Leu
	1745					1750					1755			
Leu	Gly	Pro	Tyr	Ile	Arg	Ala	Glu	Val	Glu	Asp	Asn	Ile	Met	Val
	1760					1765					1770			
Thr	Phe	Arg	Asn	Gln	Ala	Ser	Arg	Pro	Tyr	Ser	Phe	Tyr	Ser	Ser
	1775					1780					1785			

Leu	Ile 1790	Ser	Tyr	Glu	Glu	Asp 1795	Gln	Arg	Gln	Gly	Ala 1800	Glu	Pro	Arg
Lys	Asn 1805	Phe	Val	Lys	Pro	Asn 1810	Glu	Thr	Lys	Thr	Tyr 1815	Phe	Trp	Lys
Val	Gln 1820	His	His	Met	Ala	Pro 1825	Thr	Lys	Asp	Glu	Phe 1830	Asp	Cys	Lys
Ala	Trp 1835	Ala	Tyr	Phe	Ser	Asp 1840	Val	Asp	Leu	Glu	Lys 1845	Asp	Val	His
Ser	Gly 1850	Leu	Ile	Gly	Pro	Leu 1855	Leu	Val	Cys	His	Thr 1860	Asn	Thr	Leu
Asn	Pro 1865	Ala	His	Gly	Arg	Gln 1870	Val	Thr	Val	Gln	Glu 1875	Phe	Ala	Leu
Phe	Phe 1880	Thr	Ile	Phe	Asp	Glu 1885	Thr	Lys	Ser	Trp	Tyr 1890	Phe	Thr	Glu
Asn	Met 1895	Glu	Arg	Asn	Cys	Arg 1900	Ala	Pro	Cys	Asn	Ile 1905	Gln	Met	Glu
Asp	Pro 1910	Thr	Phe	Lys	Glu	Asn 1915	Tyr	Arg	Phe	His	Ala 1920	Ile	Asn	Gly
Tyr	Ile 1925	Met	Asp	Thr	Leu	Pro 1930	Gly	Leu	Val	Met	Ala 1935	Gln	Asp	Gln
Arg	Ile 1940	Arg	Trp	Tyr	Leu	Leu 1945	Ser	Met	Gly	Ser	Asn 1950	Glu	Asn	Ile
His	Ser 1955	Ile	His	Phe	Ser	Gly 1960	His	Val	Phe	Thr	Val 1965	Arg	Lys	Lys
Glu	Glu 1970	Tyr	Lys	Met	Ala	Leu 1975	Tyr	Asn	Leu	Tyr	Pro 1980	Gly	Val	Phe
Glu	Thr 1985	Val	Glu	Met	Leu	Pro 1990	Ser	Lys	Ala	Gly	Ile 1995	Trp	Arg	Val
Glu	Cys 2000	Leu	Ile	Gly	Glu	His 2005	Leu	His	Ala	Gly	Met 2010	Ser	Thr	Leu
Phe	Leu 2015	Val	Tyr	Ser	Asn	Lys 2020	Cys	Gln	Thr	Pro	Leu 2025	Gly	Met	Ala

Ser Gly His Ile Arg Asp Phe Gln Ile Thr Ala Ser Gly Gln Tyr
 2030 2035 2040
 Gly Gln Trp Ala Pro Lys Leu Ala Arg Leu His Tyr Ser Gly Ser
 2045 2050 2055
 Ile Asn Ala Trp Ser Thr Lys Glu Pro Phe Ser Trp Ile Lys Val
 2060 2065 2070
 Asp Leu Leu Ala Pro Met Ile Ile His Gly Ile Lys Thr Gln Gly
 2075 2080 2085
 Ala Arg Gln Lys Phe Ser Ser Leu Tyr Ile Ser Gln Phe Ile Ile
 2090 2095 2100
 Met Tyr Ser Leu Asp Gly Lys Lys Trp Gln Thr Tyr Arg Gly Asn
 2105 2110 2115
 Ser Thr Gly Thr Leu Met Val Phe Phe Gly Asn Val Asp Ser Ser
 2120 2125 2130
 Gly Ile Lys His Asn Ile Phe Asn Pro Pro Ile Ile Ala Arg Tyr
 2135 2140 2145
 Ile Arg Leu His Pro Thr His Tyr Ser Ile Arg Ser Thr Leu Arg
 2150 2155 2160
 Met Glu Leu Met Gly Cys Asp Leu Asn Ser Cys Ser Met Pro Leu
 2165 2170 2175
 Gly Met Glu Ser Lys Ala Ile Ser Asp Ala Gln Ile Thr Ala Ser
 2180 2185 2190
 Ser Tyr Phe Thr Asn Met Phe Ala Thr Trp Ser Pro Ser Lys Ala
 2195 2200 2205
 Arg Leu His Leu Gln Gly Arg Ser Asn Ala Trp Arg Pro Gln Val
 2210 2215 2220
 Asn Asn Pro Lys Glu Trp Leu Gln Val Asp Phe Gln Lys Thr Met
 2225 2230 2235
 Lys Val Thr Gly Val Thr Thr Gln Gly Val Lys Ser Leu Leu Thr
 2240 2245 2250
 Ser Met Tyr Val Lys Glu Phe Leu Ile Ser Ser Ser Gln Asp Gly
 2255 2260 2265

His Gln Trp Thr Leu Phe Phe Gln Asn Gly Lys Val Lys Val Phe
2270 2275 2280

Gln Gly Asn Gln Asp Ser Phe Thr Pro Val Val Asn Ser Leu Asp
2285 2290 2295

Pro Pro Leu Leu Thr Arg Tyr Leu Arg Ile His Pro Gln Ser Trp
2300 2305 2310

Val His Gln Ile Ala Leu Arg Met Glu Val Leu Gly Cys Glu Ala
2315 2320 2325

Gln Asp Leu Tyr
2330

<210> 9
<211> 2324
<212> PRT
<213> canis familiaris
<400> 9

Ala Thr Arg Lys Tyr Tyr Leu Gly Ala Val Glu Leu Ser Trp Asp Tyr
1 5 10 15

Met Gln Ser Asp Leu Leu Ser Ala Leu His Ala Asp Thr Ser Phe Ser
20 25 30

Ser Arg Val Pro Gly Ser Leu Pro Leu Thr Thr Ser Val Thr Tyr Arg
35 40 45

Lys Thr Val Phe Val Glu Phe Thr Asp Asp Leu Phe Asn Ile Ala Lys
50 55 60

Pro Arg Pro Pro Trp Met Gly Leu Leu Gly Pro Thr Ile Gln Ala Glu
65 70 75 80

Val Tyr Asp Thr Val Val Ile Val Leu Lys Asn Met Ala Ser His Pro
85 90 95

Val Ser Leu His Ala Val Gly Val Ser Tyr Trp Lys Ala Ser Glu Gly
100 105 110

Ala Glu Tyr Glu Asp Gln Thr Ser Gln Lys Glu Lys Glu Asp Asp Asn
115 120 125

Val Ile Pro Gly Glu Ser His Thr Tyr Val Trp Gln Val Leu Lys Glu
130 135 140

Asn Gly Pro Met Ala Ser Asp Pro Pro Cys Leu Thr Tyr Ser Tyr Phe
 145 150 155 160
 Ser His Val Asp Leu Val Lys Asp Leu Asn Ser Gly Leu Ile Gly Ala
 165 170 175
 Leu Leu Val Cys Lys Glu Gly Ser Leu Ala Lys Glu Arg Thr Gln Thr
 180 185 190
 Leu Gln Glu Phe Val Leu Leu Phe Ala Val Phe Asp Glu Gly Lys Ser
 195 200 205
 Trp His Ser Glu Thr Asn Ala Ser Leu Thr Gln Ala Glu Ala Gln His
 210 215 220
 Glu Leu His Thr Ile Asn Gly Tyr Val Asn Arg Ser Leu Pro Gly Leu
 225 230 235 240
 Thr Val Cys His Lys Arg Ser Val Tyr Trp His Val Ile Gly Met Gly
 245 250 255
 Thr Thr Pro Glu Val His Ser Ile Phe Leu Glu Gly His Thr Phe Leu
 260 265 270
 Val Arg Asn His Arg Gln Ala Ser Leu Glu Ile Ser Pro Ile Thr Phe
 275 280 285
 Leu Thr Ala Gln Thr Phe Leu Met Asp Leu Gly Gln Phe Leu Leu Phe
 290 295 300
 Cys His Ile Pro Ser His Gln His Asp Gly Met Glu Ala Tyr Val Lys
 305 310 315 320
 Val Asp Ser Cys Pro Glu Glu Pro Gln Leu Arg Met Lys Asn Asn Glu
 325 330 335
 Asp Lys Asp Tyr Asp Asp Gly Leu Tyr Asp Ser Asp Met Asp Val Val
 340 345 350
 Ser Phe Asp Asp Asp Ser Ser Ser Pro Phe Ile Gln Ile Arg Ser Val
 355 360 365
 Ala Lys Lys His Pro Lys Thr Trp Val His Tyr Ile Ala Ala Glu Glu
 370 375 380
 Glu Asp Trp Asp Tyr Ala Pro Ser Gly Pro Thr Pro Asn Asp Arg Ser
 385 390 395 400

His Lys Asn Leu Tyr Leu Asn Asn Gly Pro Gln Arg Ile Gly Lys Lys
 405 410 415
 Tyr Lys Lys Val Arg Phe Val Ala Tyr Thr Asp Glu Thr Phe Lys Thr
 420 425 430
 Arg Glu Ala Ile Gln Tyr Glu Ser Gly Ile Leu Gly Pro Leu Leu Tyr
 435 440 445
 Gly Glu Val Gly Asp Thr Leu Leu Ile Ile Phe Lys Asn Gln Ala Ser
 450 455 460
 Arg Pro Tyr Asn Ile Tyr Pro His Gly Ile Asn Tyr Val Thr Pro Leu
 465 470 475 480
 His Thr Gly Arg Leu Pro Lys Gly Val Lys His Leu Lys Asp Met Pro
 485 490 495
 Ile Leu Pro Gly Glu Ile Phe Lys Tyr Lys Trp Thr Val Thr Val Glu
 500 505 510
 Asp Gly Pro Thr Lys Ser Asp Pro Arg Cys Leu Thr Arg Tyr Tyr Ser
 515 520 525
 Ser Phe Ile Asn Leu Glu Arg Asp Leu Ala Ser Gly Leu Ile Gly Pro
 530 535 540
 Leu Leu Ile Cys Tyr Lys Glu Ser Val Asp Gln Arg Gly Asn Gln Met
 545 550 555 560
 Met Ser Asp Lys Arg Asn Val Ile Leu Phe Ser Val Phe Asp Glu Asn
 565 570 575
 Arg Ser Trp Tyr Leu Thr Glu Asn Met Gln Arg Phe Leu Pro Asn Ala
 580 585 590
 Asp Val Val Gln Pro His Asp Pro Glu Phe Gln Leu Ser Asn Ile Met
 595 600 605
 His Ser Ile Asn Gly Tyr Val Phe Asp Asn Leu Gln Leu Ser Val Cys
 610 615 620
 Leu His Glu Val Ala Tyr Trp Tyr Ile Leu Ser Val Gly Ala Gln Thr
 625 630 635 640
 Asp Phe Leu Ser Val Phe Phe Ser Gly Tyr Thr Phe Lys His Lys Met
 645 650 655

Val Tyr Glu Asp Thr Leu Thr Leu Phe Pro Phe Ser Gly Glu Thr Val
 660 665 670
 Phe Met Ser Met Glu Asn Pro Gly Leu Trp Val Leu Gly Cys His Asn
 675 680 685
 Ser Asp Phe Arg Asn Arg Gly Met Thr Ala Leu Leu Lys Val Ser Ser
 690 695 700
 Cys Asn Arg Asn Ile Asp Asp Tyr Tyr Glu Asp Thr Tyr Glu Asp Ile
 705 710 715 720
 Pro Thr Pro Leu Leu Asn Glu Asn Asn Val Ile Lys Pro Arg Ser Phe
 725 730 735
 Ser Gln Asn Ser Arg His Pro Ser Thr Lys Glu Lys Gln Leu Lys Ala
 740 745 750
 Thr Thr Thr Pro Glu Asn Asp Ile Glu Lys Ile Asp Leu Gln Ser Gly
 755 760 765
 Glu Arg Thr Gln Leu Ile Lys Ala Gln Ser Val Ser Ser Ser Asp Leu
 770 775 780
 Leu Met Leu Leu Gly Gln Asn Pro Thr Pro Arg Gly Leu Phe Leu Ser
 785 790 795 800
 Asp Leu Arg Glu Ala Thr Asp Arg Ala Asp Asp His Ser Arg Gly Ala
 805 810 815
 Ile Glu Arg Asn Lys Gly Pro Pro Glu Val Ala Ser Leu Arg Pro Glu
 820 825 830
 Leu Arg His Ser Glu Asp Arg Glu Phe Thr Pro Glu Pro Glu Leu Gln
 835 840 845
 Leu Arg Leu Asn Glu Asn Leu Gly Thr Asn Thr Thr Val Glu Leu Lys
 850 855 860
 Lys Leu Asp Leu Lys Ile Ser Ser Ser Ser Asp Ser Leu Met Thr Ser
 865 870 875 880
 Pro Thr Ile Pro Ser Asp Lys Leu Ala Ala Ala Thr Glu Lys Thr Gly
 885 890 895
 Ser Leu Gly Pro Pro Asn Met Ser Val His Phe Asn Ser His Leu Gly
 900 905 910

Thr Ile Val Phe Gly Asn Asn Ser Ser His Leu Ile Gln Ser Gly Val
 915 920 925
 Pro Leu Glu Leu Ser Glu Glu Asp Asn Asp Ser Lys Leu Leu Glu Ala
 930 935 940
 Pro Leu Met Asn Ile Gln Glu Ser Ser Leu Arg Glu Asn Val Leu Ser
 945 950 955 960
 Met Glu Ser Asn Arg Leu Phe Lys Glu Glu Arg Ile Arg Gly Pro Ala
 965 970 975
 Ser Leu Ile Lys Asp Asn Ala Leu Phe Lys Val Asn Ile Ser Ser Val
 980 985 990
 Lys Thr Asn Arg Ala Pro Val Asn Leu Thr Thr Asn Arg Lys Thr Arg
 995 1000 1005
 Val Ala Ile Pro Thr Leu Leu Ile Glu Asn Ser Thr Ser Val Trp
 1010 1015 1020
 Gln Asp Ile Met Leu Glu Arg Asn Thr Glu Phe Lys Glu Val Thr
 1025 1030 1035
 Ser Leu Ile His Asn Glu Thr Phe Met Asp Arg Asn Thr Thr Ala
 1040 1045 1050
 Leu Gly Leu Asn His Val Ser Asn Lys Thr Thr Leu Ser Lys Asn
 1055 1060 1065
 Val Glu Met Ala His Gln Lys Lys Glu Asp Pro Val Pro Leu Arg
 1070 1075 1080
 Ala Glu Asn Pro Asp Leu Ser Ser Ser Lys Ile Pro Phe Leu Pro
 1085 1090 1095
 Asp Trp Ile Lys Thr His Gly Lys Asn Ser Leu Ser Ser Glu Gln
 1100 1105 1110
 Arg Pro Ser Pro Lys Gln Leu Thr Ser Leu Gly Ser Glu Lys Ser
 1115 1120 1125
 Val Lys Asp Gln Asn Phe Leu Ser Glu Glu Lys Val Val Val Gly
 1130 1135 1140
 Glu Asp Glu Phe Thr Lys Asp Thr Glu Leu Gln Glu Ile Phe Pro
 1145 1150 1155

Asn Asn Lys Ser Ile Phe Phe Ala Asn Leu Ala Asn Val Gln Glu
 1160 1165 1170
 Asn Asp Thr Tyr Asn Gln Glu Lys Lys Ser Pro Glu Glu Ile Glu
 1175 1180 1185
 Arg Lys Glu Lys Leu Thr Gln Glu Asn Val Ala Leu Pro Gln Ala
 1190 1195 1200
 His Thr Met Ile Gly Thr Lys Asn Phe Leu Lys Asn Leu Phe Leu
 1205 1210 1215
 Leu Ser Thr Lys Gln Asn Val Ala Gly Leu Glu Glu Gln Pro Tyr
 1220 1225 1230
 Thr Pro Ile Leu Gln Asp Thr Arg Ser Leu Asn Asp Ser Pro His
 1235 1240 1245
 Ser Glu Gly Ile His Met Ala Asn Phe Ser Lys Ile Arg Glu Glu
 1250 1255 1260
 Ala Asn Leu Glu Gly Leu Gly Asn Gln Thr Asn Gln Met Val Glu
 1265 1270 1275
 Arg Phe Pro Ser Thr Thr Arg Met Ser Ser Asn Ala Ser Gln His
 1280 1285 1290
 Val Ile Thr Gln Arg Gly Lys Arg Ser Leu Lys Gln Pro Arg Leu
 1295 1300 1305
 Ser Gln Gly Glu Ile Lys Phe Glu Arg Lys Val Ile Ala Asn Asp
 1310 1315 1320
 Thr Ser Thr Gln Trp Ser Lys Asn Met Asn Tyr Leu Ala Gln Gly
 1325 1330 1335
 Thr Leu Thr Gln Ile Glu Tyr Asn Glu Lys Glu Lys Arg Ala Ile
 1340 1345 1350
 Thr Gln Ser Pro Leu Ser Asp Cys Ser Met Arg Asn His Val Thr
 1355 1360 1365
 Ile Gln Met Asn Asp Ser Ala Leu Pro Val Ala Lys Glu Ser Ala
 1370 1375 1380
 Ser Pro Ser Val Arg His Thr Asp Leu Thr Lys Ile Pro Ser Gln
 1385 1390 1395

His	Asn	Ser	Ser	His	Leu	Pro	Ala	Ser	Ala	Cys	Asn	Tyr	Thr	Phe
	1400					1405					1410			
Arg	Glu	Arg	Thr	Ser	Gly	Val	Gln	Glu	Gly	Ser	His	Phe	Leu	Gln
	1415					1420					1425			
Glu	Ala	Lys	Arg	Asn	Asn	Leu	Ser	Leu	Ala	Phe	Val	Thr	Leu	Gly
	1430					1435					1440			
Ile	Thr	Glu	Gly	Gln	Gly	Lys	Phe	Ser	Ser	Leu	Gly	Lys	Ser	Ala
	1445					1450					1455			
Thr	Asn	Gln	Pro	Met	Tyr	Lys	Lys	Leu	Glu	Asn	Thr	Val	Leu	Leu
	1460					1465					1470			
Gln	Pro	Gly	Leu	Ser	Glu	Thr	Ser	Asp	Lys	Val	Glu	Leu	Leu	Ser
	1475					1480					1485			
Gln	Val	His	Val	Asp	Gln	Glu	Asp	Ser	Phe	Pro	Thr	Lys	Thr	Ser
	1490					1495					1500			
Asn	Asp	Ser	Pro	Gly	His	Leu	Asp	Leu	Met	Gly	Lys	Ile	Phe	Leu
	1505					1510					1515			
Gln	Lys	Thr	Gln	Gly	Pro	Val	Lys	Met	Asn	Lys	Thr	Asn	Ser	Pro
	1520					1525					1530			
Gly	Lys	Val	Pro	Phe	Leu	Lys	Trp	Ala	Thr	Glu	Ser	Ser	Glu	Lys
	1535					1540					1545			
Ile	Pro	Ser	Lys	Leu	Leu	Gly	Val	Leu	Ala	Trp	Asp	Asn	His	Tyr
	1550					1555					1560			
Asp	Thr	Gln	Ile	Pro	Ser	Glu	Glu	Trp	Lys	Ser	Gln	Lys	Lys	Ser
	1565					1570					1575			
Gln	Thr	Asn	Thr	Ala	Phe	Lys	Arg	Lys	Asp	Thr	Ile	Leu	Pro	Leu
	1580					1585					1590			
Gly	Pro	Cys	Glu	Asn	Asn	Asp	Ser	Thr	Ala	Ala	Ile	Asn	Glu	Gly
	1595					1600					1605			
Gln	Asp	Lys	Pro	Gln	Arg	Glu	Ala	Met	Trp	Ala	Lys	Gln	Gly	Glu
	1610					1615					1620			
Pro	Gly	Arg	Leu	Cys	Ser	Gln	Asn	Pro	Pro	Val	Ser	Lys	His	His
	1625					1630					1635			

Gln	Arg	Glu	Ile	Thr	Val	Thr	Thr	Leu	Gln	Pro	Glu	Glu	Asp	Lys
	1640					1645					1650			
Phe	Glu	Tyr	Asp	Asp	Thr	Phe	Ser	Ile	Glu	Met	Lys	Arg	Glu	Asp
	1655					1660					1665			
Phe	Asp	Ile	Tyr	Gly	Asp	Tyr	Glu	Asn	Gln	Gly	Leu	Arg	Ser	Phe
	1670					1675					1680			
Gln	Lys	Lys	Thr	Arg	His	Tyr	Phe	Ile	Ala	Ala	Val	Glu	Arg	Leu
	1685					1690					1695			
Trp	Asp	Tyr	Gly	Met	Ser	Arg	Ser	Pro	His	Ile	Leu	Arg	Asn	Arg
	1700					1705					1710			
Ala	Gln	Ser	Gly	Asp	Val	Gln	Gln	Phe	Lys	Lys	Val	Val	Phe	Gln
	1715					1720					1725			
Glu	Phe	Thr	Asp	Gly	Ser	Phe	Thr	Gln	Pro	Leu	Tyr	Arg	Gly	Glu
	1730					1735					1740			
Leu	Asn	Glu	His	Leu	Gly	Leu	Leu	Gly	Pro	Tyr	Ile	Arg	Ala	Glu
	1745					1750					1755			
Val	Glu	Asp	Asn	Ile	Val	Val	Thr	Phe	Lys	Asn	Gln	Ala	Ser	Arg
	1760					1765					1770			
Pro	Tyr	Ser	Phe	Tyr	Ser	Ser	Leu	Ile	Ser	Tyr	Asp	Glu	Asp	Glu
	1775					1780					1785			
Gly	Gln	Gly	Ala	Glu	Pro	Arg	Arg	Lys	Phe	Val	Asn	Pro	Asn	Glu
	1790					1795					1800			
Thr	Lys	Ile	Tyr	Phe	Trp	Lys	Val	Gln	His	His	Met	Ala	Pro	Thr
	1805					1810					1815			
Lys	Asp	Glu	Phe	Asp	Cys	Lys	Ala	Trp	Ala	Tyr	Phe	Ser	Asp	Val
	1820					1825					1830			
Asp	Leu	Glu	Lys	Asp	Val	His	Ser	Gly	Leu	Ile	Gly	Pro	Leu	Leu
	1835					1840					1845			
Ile	Cys	Arg	Ser	Asn	Thr	Leu	Asn	Pro	Ala	His	Gly	Arg	Gln	Val
	1850					1855					1860			
Thr	Val	Gln	Glu	Phe	Ala	Leu	Val	Phe	Thr	Ile	Phe	Asp	Glu	Thr
	1865					1870					1875			

Lys	Ser	Trp	Tyr	Phe	Thr	Glu	Asn	Leu	Glu	Arg	Asn	Cys	Arg	Ala
1880						1885					1890			
Pro	Cys	Asn	Val	Gln	Lys	Glu	Asp	Pro	Thr	Leu	Lys	Glu	Asn	Phe
1895						1900					1905			
Arg	Phe	His	Ala	Ile	Asn	Gly	Tyr	Val	Lys	Asp	Thr	Leu	Pro	Gly
1910						1915					1920			
Leu	Val	Met	Ala	Gln	Asp	Gln	Lys	Val	Arg	Trp	Tyr	Leu	Leu	Ser
1925						1930					1935			
Met	Gly	Ser	Asn	Glu	Asn	Ile	His	Ser	Ile	His	Phe	Ser	Gly	His
1940						1945					1950			
Val	Phe	Thr	Val	Arg	Lys	Lys	Glu	Glu	Tyr	Lys	Met	Ala	Val	Tyr
1955						1960					1965			
Asn	Leu	Tyr	Pro	Gly	Val	Phe	Glu	Thr	Val	Glu	Met	Leu	Pro	Ser
1970						1975					1980			
Gln	Val	Gly	Ile	Trp	Arg	Ile	Glu	Cys	Leu	Ile	Gly	Glu	His	Leu
1985						1990					1995			
Gln	Ala	Gly	Met	Ser	Thr	Leu	Phe	Leu	Val	Tyr	Ser	Lys	Lys	Cys
2000						2005					2010			
Gln	Thr	Pro	Leu	Gly	Met	Ala	Ser	Gly	His	Ile	Arg	Asp	Phe	Gln
2015						2020					2025			
Ile	Thr	Ala	Ser	Gly	Gln	Tyr	Gly	Gln	Trp	Ala	Pro	Lys	Leu	Ala
2030						2035					2040			
Arg	Leu	His	Tyr	Ser	Gly	Ser	Ile	Asn	Ala	Trp	Ser	Thr	Lys	Asp
2045						2050					2055			
Pro	Phe	Ser	Trp	Ile	Lys	Val	Asp	Leu	Leu	Ala	Pro	Met	Ile	Ile
2060						2065					2070			
His	Gly	Ile	Met	Thr	Gln	Gly	Ala	Arg	Gln	Lys	Phe	Ser	Ser	Leu
2075						2080					2085			
Tyr	Val	Ser	Gln	Phe	Ile	Ile	Met	Tyr	Ser	Leu	Asp	Gly	Asn	Lys
2090						2095					2100			
Trp	His	Ser	Tyr	Arg	Gly	Asn	Ser	Thr	Gly	Thr	Leu	Met	Val	Phe
2105						2110					2115			

Phe Gly Asn Val Asp Ser Ser Gly Ile Lys His Asn Ile Phe Asn
 2120 2125 2130
 Pro Pro Ile Ile Ala Gln Tyr Ile Arg Leu His Pro Thr His Tyr
 2135 2140 2145
 Ser Ile Arg Ser Thr Leu Arg Met Glu Leu Leu Gly Cys Asp Phe
 2150 2155 2160
 Asn Ser Cys Ser Met Pro Leu Gly Met Glu Ser Lys Ala Ile Ser
 2165 2170 2175
 Asp Ala Gln Ile Thr Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Ser Met Leu Ala
 2180 2185 2190
 Thr Trp Ser Pro Ser Gln Ala Arg Leu His Leu Gln Gly Arg Thr
 2195 2200 2205
 Asn Ala Trp Arg Pro Gln Ala Asn Asn Pro Lys Glu Trp Leu Gln
 2210 2215 2220
 Val Asp Phe Arg Lys Thr Met Lys Val Thr Gly Ile Thr Thr Gln
 2225 2230 2235
 Gly Val Lys Ser Leu Leu Ile Ser Met Tyr Val Lys Glu Phe Leu
 2240 2245 2250
 Ile Ser Ser Ser Gln Asp Gly His Asn Trp Thr Leu Phe Leu Gln
 2255 2260 2265
 Asn Gly Lys Val Lys Val Phe Gln Gly Asn Arg Asp Ser Ser Thr
 2270 2275 2280
 Pro Val Arg Asn Arg Leu Glu Pro Pro Leu Val Ala Arg Tyr Val
 2285 2290 2295
 Arg Leu His Pro Gln Ser Trp Ala His His Ile Ala Leu Arg Leu
 2300 2305 2310
 Glu Val Leu Gly Cys Asp Thr Gln Gln Pro Ala
 2315 2320

<210> 10
 <211> 27
 <212> PRT
 <213> Sus scrofa
 <400> 10

Asp Ile Gly Asp Tyr Tyr Asp Asn Thr Tyr Glu Asp Ile Pro Gly Phe
 1 5 10 15

Leu Leu Ser Gly Lys Asn Val Ile Glu Pro Arg
 20 25

<210> 11
 <211> 27
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 11

Asn Thr Gly Asp Tyr Tyr Glu Asp Ser Tyr Glu Asp Ile Ser Ala Tyr
 1 5 10 15

Leu Leu Ser Lys Asn Asn Ala Ile Glu Pro Arg
 20 25

<210> 12
 <211> 27
 <212> PRT
 <213> Canis familiaris

<400> 12

Asn Ile Asp Asp Tyr Tyr Glu Asp Thr Tyr Glu Asp Ile Pro Thr Pro
 1 5 10 15

Leu Leu Asn Glu Asn Asn Val Ile Lys Pro Arg
 20 25