
Diagnose blasenbildender Autoimmunkrankheiten

Die vorliegende Erfindung betrifft ein Polypeptid umfassend Laminin beta-4, einen Träger umfassend das Polypeptid, einen Antikörper, bevorzugt Autoantikörper gegen Laminin beta-4, eine Verwendung des Polypeptides, Trägers oder Autoantikörpers zur Diagnose einer Krankheit sowie ein Verfahren umfassend den Schritt Nachweisen eines Autoantikörpers gegen Laminin beta-4 in einer Probe.

Unter Autoimmunkrankheiten versteht man Krankheiten, bei denen sich das Immunsystem gegen intakte Strukturen des eigenen Körpers richtet. Bei vielen Autoimmunkrankheiten produziert der Körper nachweisbare Autoantikörper, die gegen Proteine des eigenen Körpers binden und damit Störungen verursachen kann. In anderen Fällen scheint die Anwesenheit von Autoantikörpern nicht kausal für den Ausbruch der Krankheit verantwortlich zu sein.

Blasenbildende Autoimmunkrankheiten zeichnen sich dadurch aus, dass Autoantikörper Zielstrukturen in der Haut angreifen. Immunmechanismen bewirken, dass es zur Ablösung der oberen Hautbestandteile kommt, was zur Bildung von Blasen führt.

Anhand der Zielantigene und der Lokalisation der Spaltbildung unterscheidet man 4 Hauptgruppen: Die Pemphigus- und Pemphigoid-Erkrankungen, die Epidermolysis bullosa acquisita (EBA) und die Dermatitis herpetiformis Dühring. Bei den Pemphiguserkrankungen liegt die Blasenbildung intra-, bei den übrigen bullösen Autoimmundermatosen subepithelial.

Pemphigus vulgaris (PV) ist die häufigste Pemphiguserkrankung, gefolgt vom Pemphigus foliaceus, während andere Formen von Pemphiguserkrankungen wie der paraneoplastische Pemphigus sehr selten auftreten. Der Pemphigus vulgaris (PV) zeichnet sich durch relativ schnell platzende Blasen aus, die Rötungen, Erosionen und Krusten auf der Haut hinterlassen, bedingt durch eine Auflösung des Zellverbandes in der Epidermis. An den betroffenen Stellen kommt es häufig zu Infektionen. Von den Bläschen sind häufig und zu Beginn der Erkrankung die Mundschleimhäute oder die Schleimhäute im Genitalbereich mit starker Schmerzhaftigkeit betroffen. Wird die Erkrankung nicht rechtzeitig erkannt und thera-

piert, so sind schwere, in manchen Fällen tödliche Verläufe zu erwarten. Der PV tritt mit etwa 1 bis 2 Neuerkrankungen pro einer Million Menschen selten auf.

Bei den subepidermal Blasen bildenden Autoimmunerkrankungen sind die Autoantikörper
5 gegen Strukturproteine im Bereich der dermo-epidermalen Junktionszone (DEJ) gerichtet. Diese Proteine sind von großer Bedeutung für die Adhäsion der basalen Keratinozyten auf der darunter liegenden Dermis. Bei dieser Erkrankungsgruppe unterscheidet man bullöses Pemphigoid, Anti-p200-Pemphigoid, Pemphigoid gestationis, Schleimhautpemphigoid, lineare IgA-Dermatose, Lichen ruber pemphigoides, Epidermolysis bullosa acquisita (EBA)
10 und Dermatitis Duhring.

Das bullöse Pemphigoid (BP) ist die häufigste subepidermal blasenbildende Autoimmunkrankheit. Charakteristisch sind aufgrund einer Ablösung der Oberhaut gebildete, prall gefüllte Blasen auf gesunder oder geröteter Haut, die mit starkem Juckreiz als Vorboten
15 einhergehen können. Die Blasen treten häufig am Körperstamm sowie den Oberschenkeln und Armen auf. Bei 20 Prozent der Patienten kommt es auch zu einer Mitbeteiligung der Schleimhäute. Platzen die Blasen, so heilen die Wunden meist ohne Narbenbildung ab. Das BP ist eine relativ häufige Autoimmunerkrankung, mit etwa 15 bis 20 Neuerkrankungen pro einer Million Menschen.

20 Nach dem bullösen Pemphigoid ist das Schleimhaut-Pemphigoid (SHP, eine Variante davon ist das Anti-Laminin 332 SHP) die zweit-häufigste bullöse Autoimmundermatose. Das SHP stellt klinisch ein heterogenes Krankheitsbild dar, bei dem definitionsgemäß überwiegend die Schleimhäute betroffen sind. Am häufigsten sind die Schleimhäute von Mund und Augen
25 betroffen. Blasenbildende Läsionen heilen manchmal mit Narbenbildung ab. Sind die Konjunktiven betroffen, kann dieses zur Erblindung führen.

Das klinische Bild des Anti-p200-Pemphigoids ist variabel, wobei der BP-ähnliche Typ am häufigsten auftritt. Diese Erkrankung ist seltener als das BP, was auch daran liegen kann,
30 dass viele dieser Patienten aufgrund ihres ähnlichen Immunfluoreszenzmusters als EBA oder Anti-Laminin 332 Schleimhautpemphigoid fehldiagnostiziert werden

Die Epidermolysis bullosa acquisita (EBA) ist eine sehr seltene subepidermale bullöse Autoimmunkrankheit, die durch Autoantikörper gegen Typ VII Kollagen charakterisiert ist.
35 Klinisch können die mechano-bullöse Form und entzündliche Varianten (ähnlich dem BP oder dem Schleimhautpemphigoid) unterschieden werden.

Die klinische oder histologische Unterscheidung der Krankheiten ist schwierig. Im Stand der Technik sind jedoch eine Reihe von serologischen Tests beschrieben, die in vielen Fällen eine Diagnose gestatten. Bei PV treten Autoantikörper gegen die Proteine Desmoglein 1 und/oder 3 auf. Bei BP lassen sich in fast allen Fällen Autoantikörper gegen die Proteine BP180 und/oder BP230 nachweisen, in manchen Fällen auch gegen Laminin 332.

Das Anti-p200-Pemphigoid ist durch Autoantikörper gegen ein Protein der dermalen-epidermalen Junktionszone mit einer apparenten Molmasse von etwa 200kDa charakterisiert. Dieses Protein wurde 2009 (Dainichi, T, Kurono, S., Ohyama, B., Ishii, N., Sanzen, N., Hayashi, M., Shimono, C., Taniguchi, Y., Koga, H., Karashima, T., Yasumoto, S., Zillikens, D., Sekiguchi, K., Hashimoto, T. (2009). Anti-laminin gamma-1 pemphigoid. 106(8):2800-5;) als Laminin gamma-1 beschrieben. Zusätzlich können im Rahmen eines Epitopsreadings auch Antikörper gegen Typ VII Kollagen, BP180 oder auch gegen Laminin 332 gefunden werden.

Zur Anwendung kommen dabei insbesondere ELISA und indirekte Immunfluoreszenz, prinzipiell sind aber auch andere immunbiochemischen Methoden einsetzbar. Geeignet ist beispielsweise das Dermatologie-Profil der EUROIMMUN Medizinische Labordiagnostika AG (EA 1490-1208-1 G), das BP180, NC16A-4X, BP230-CF, Desmoglein 1, Desmoglein 3, Envoplakin und Kollegen Typ VII umfasst.

Der Stand der Technik offenbart diagnostische Verfahrensweisen, insbesondere die indirekte Immunfluoreszenz mit Ösophagusgewebeschnitten von Primaten oder ELISA mit den rekombinanten Autoantigenen als Substrat (vergleiche van Beek, N., Zillikens, D., und Schmidt, E. (2018): Diagnosis of autoimmune bullous diseases, *J. Dtsch. Dermatol. Ges.* 16 (9), S. 1077-1091). Ein diagnostisch besonders zuverlässiger Test zum Nachweis vom Anti-Laminin 332 Schleimhautpemphigoid kann mittels Immunfluoreszenz und rekombinantem Laminin 332 durchgeführt werden (Goletz, S., Probst, C., Komorowski, L., Schlumberger, W., Fechner, K., van Beek, N., Holtsche, M. M., Recke, A., Yancey, K. B., Hashimoto, T., Antonicelli, F., Di Zenzo, G., Zillikens, D., Stöcker W., und Schmidt, E. (2018): Sensitive and specific assay for the serological diagnosis of anti-laminin 332 mucous membrane pemphigoid, *Br. J. Dermatol.*, DOI 10-1111/bjd.17202). Der Stand der Technik beschreibt keine Autoantikörper gegen Laminin beta-4.

Es zeigt sich jedoch, dass der Nachweis über Laminin gamma-1 nicht bei allen Patienten positiv ist. Im Westernblot mit rekombinanten Formen von Laminin gamma-1 konnten 90% und im ELISA mit der C-terminalen Domäne von Laminin gamma-1 69% der getesteten Anti-p200-Pemphigoid Patienten detektiert werden (Dainichi et al., 2009; Groth, S., Recke, A.,
5 Vafia, K., Ludwig, R.J., Hashimoto, T., Zillikens, D., Schmidt, E. (2011). Development of a simple enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of autoantibodies in anti-p200 pemphigoid, Br J Dermatol. 164(1):76-82).

Der klinische Verlauf des Anti-p200-Pemphigoid ist variabel. Im Gegensatz zur
10 Epidermolysis bullosa acquisita und dem bullösen Pemphigoid handelt es sich hier um eine relativ benigne Erkrankung mit gutem therapeutischen Ansprechen. Deshalb ist die Differenzierung dieser Erkrankungen von großer klinischer Bedeutung.

US6,682,911 offenbart Laminin 12 und Präparationen von isoliertem Laminin 12 und von
15 Untereinheiten davon.

Vor diesem Hintergrund besteht Bedarf an einem Nachweis für das Anti-p200-Pemphigoid mit höherer diagnostischer Zuverlässigkeit, insbesondere Sensitivität. Dabei soll zudem die
20 Differenzierbarkeit zwischen den verschiedenen blasenbildenden Autoimmunkrankheiten der Haut verbessert werden.

In einem ersten Aspekt wird die der Erfindung zugrundeliegende Aufgabe gelöst durch ein Polypeptid umfassend Laminin beta-4 oder eine Variante davon, bevorzugt in rekombinanter
25 und/oder isolierter Form.

In einer bevorzugten Ausführungsform ist das Polypeptid immobilisiert.

In einem zweiten Aspekt wird das Problem gelöst durch einen Träger umfassend das
30 erfindungsgemäße Polypeptid, weiter umfassend wenigstens ein, bevorzugt alle Antigene aus der Gruppe umfassend Laminin gamma-1, BP180, BP230, Desmoglein 1, Desmoglein 3, Envoplakin, desamidiertes Gliadin, Laminin 332 und Kollagen Typ VII oder Varianten davon.

In einer bevorzugten Ausführungsform ist der Träger aus der Gruppe ausgewählt, die einen
35 Glasträger, bevorzugt Objektträger für Mikroskopie, einen Biochip, eine Mikrotiterplatte, eine Lateral Flow-Vorrichtung, einen Teststreifen, eine Membran, bevorzugt einen Blot,

bevorzugter ein Linienblot, ein Chromatographiesäulenmaterial und einen Bead umfasst, bevorzugt einen magnetischen oder fluoreszenten Bead.

5 In einem dritten Aspekt wird das Problem gelöst durch einen therapeutisch nützlichen Träger umfassend das erfindungsgemäße Polypeptid, wobei der Träger das Kontaktieren von menschlichem Blut mit dem Polypeptid, gefolgt von der Rückführung des Blutes in den Körper eines Patienten gestattet, wobei der Träger bevorzugt eine Aphereseapparatur ist.

10 In einem vierten Aspekt wird das Problem gelöst durch einen Antikörper, bevorzugt Autoantikörper gegen Laminin beta-4, bevorzugt in isolierter Form.

15 In einem fünften Aspekt wird das Problem gelöst durch die Verwendung des erfindungsgemäßen Polypeptides, Trägers oder Autoantikörpers zur Diagnose einer Krankheit.

In einem sechsten Aspekt wird das Problem gelöst durch ein Verfahren zur Herstellung eines diagnostisch oder therapeutisch nützlichen Trägers, umfassend den Schritt Beschichten des Trägers mit dem erfindungsgemäßen Polypeptid.

20 In einem siebten Aspekt wird das Problem gelöst durch ein Verfahren zum Aufreinigen eines Autoantikörpers, umfassend die Schritte a) Kontaktieren einer Flüssigkeit umfassend den Autoantikörper mit dem erfindungsgemäßen Polypeptid unter Bedingungen, die die Ausbildung eines Komplexes umfassend den Autoantikörper und das Polypeptid gestatten, b) Isolieren des Komplexes aus Schritt a), und c) optional Nachweisen des Komplexes aus Schritt a) oder Dissoziieren des in Schritt b) isolierten Komplexes, gefolgt von Abtrennen des Autoantikörpers vom Polypeptid.

30 In einem achten Aspekt wird das Problem gelöst durch ein Verfahren umfassend den Schritt Nachweisen eines Autoantikörpers gegen Laminin beta-4 in einer Probe.

In einem neunten Aspekt wird das Problem gelöst durch eine pharmazeutische Zusammensetzung umfassend das erfindungsgemäße Polypeptid oder eine Variante davon, bevorzugt zusammen mit einem pharmazeutisch akzeptablen Träger.

35 In einem zehnten Aspekt wird das Problem gelöst durch ein Kit umfassend das erfindungsgemäße Polypeptid oder den erfindungsgemäßen Träger, wobei das Kit ein oder

mehr als ein Reagenz, bevorzugt alle Reagenzien aus der Gruppe enthält, die eine Waschlösung, eine Kalibratorlösung, einen Antikörper gegen Laminin beta-4, und ein Mittel zum Nachweisen eines Autoantikörpers gegen Laminin beta-4, bevorzugt einen sekundären Antikörper, umfasst.

5

In einem elften Aspekt wird das Problem gelöst durch die Verwendung des erfindungsgemäßen Polypeptids, des erfindungsgemäßen Trägers oder eines Antikörpers, bevorzugt Autoantikörpers gegen Laminin beta-4 zur Herstellung eines Kits oder diagnostisch oder therapeutisch nützlichen Trägers.

10

In einer bevorzugten Ausführungsform wird ein Autoantikörper gegen Laminin beta-4 unter Verwendung einer Methode nachgewiesen, die aus der Gruppe ausgewählt ist, welche Immundiffusion, Immunelektrophorese, Lichtstreuung, Agglutination, Immuntest mit Markierung wie die aus der Gruppe umfassend Immuntest mit radioaktiver Markierung, mit enzymatischer Markierung, bevorzugter ELISA, mit Chemilumineszenz-Markierung, bevorzugter Elektrochemilumineszenz-Markierung und mit Immunfluoreszenz-Markierung, bevorzugt indirekte Immunfluoreszenz, umfasst.

15

In einem zwölften Aspekt wird das Problem gelöst durch die Verwendung des erfindungsgemäßen Polypeptides oder des erfindungsgemäßen Antikörpers zur Bestimmung der Fähigkeit, bevorzugt Kapazität einer diagnostischen oder therapeutischen Vorrichtung oder eines diagnostischen oder therapeutischen Reagenz, einen Antikörper gegen Laminin beta-4 zu binden.

25

Die vorliegende Erfindung beruht auf der überraschenden Erkenntnis der Erfinder, dass ein Autoantikörper gegen Laminin beta-4 existiert und spezifisch bei Patienten, die unter Anti-p200-Pemphigoid leiden, nachgewiesen werden kann.

30

Die Erfinder haben weiterhin gefunden, dass der Nachweis dieses Autoantikörpers die Sensitivität des serologischen diagnostischen Tests für das Anti-p200-Pemphigoid erhöht. Er kann bei einigen Patienten nachgewiesen werden, bei denen der bisher als alleinig entscheidend angesehene Autoantikörper gegen Laminin gamma-1 nicht nachgewiesen werden kann.

35

Laminine sind trimere Basalmembranproteine, die aus alpha-, beta- und gamma-Ketten bestehen. Bei Laminin beta-4 handelt es sich um eine beta-Kette. Laminine sind an vielen physiologischen Funktionen wie z.B. der Zelladhäsion, Migration, Differenzierung, neuronale Entwicklung und an der Regulation der Genexpression beteiligt.

5

Choi *et al.* (2015) beobachteten eine reduzierte Expression von Laminin beta-4 in Magen- und Darmkrebsgewebe. Sie identifizierten somatische Laminin beta-4-Mutationen in Krebsgewebe, die möglicherweise zu einer reduzierten Laminin beta-4-Expression beigetragen haben (Choi, M. R., An, C. H., Yoo, N. J., Lee, S. H. Laminin gene LAMB4 is somatically mutated and expressionally altered in gastric and colorectal cancers. *APMIS* 123: 65-71, 2015.) Reduzierte Laminin beta-4-Level könnten zudem auch eine Rolle bei der Divertikulitits spielen (Coble JL, Sheldon KE, Yue F, Salameh TJ, Harris LR III, Deiling S, Ruggiero FM, Eshelman MA, Yochum GS, Koltun WA, Gerhard GS, Broach JR. Identification of a rare LAMB4 variant associated with familial diverticulitis through exome sequencing. *Hum Mol Genet.* 2017;26(16):3212-3220).

10

15

Die vorliegende Erfindung betrifft ein Polypeptid umfassend ein Säugetier-Laminin beta-4, bevorzugt aus dem Menschen, Affen, dem Rind, dem Schaf oder Schwein und besonders bevorzugt aus dem Menschen.

20

In einer bevorzugteren Ausführungsform ist Laminin beta-4 das Polypeptid, das durch die Datenbank-Codes (BC140804), bevorzugt SEQ ID NO27, kodiert wird, oder eine Variante davon. In dieser Anmeldung stehen sämtliche zitierte Datenbank-Codes für die Uniprot-Datenbank oder sonstige Datenbanken, genauer für deren Version am Einreichungstag dieser Anmeldung oder ihrer frühesten Prioritätsanmeldung. In einer weiteren bevorzugten Ausführungsform weisen die weiteren Antigene die jeweils in Klammern angegebene Sequenz auf: Laminin gamma-1 (LAMC1 P11047), Laminin 332 ausgewählt aus der Gruppe umfassend LAMA3 (Q16787), LAMB3 (Q13751) und LAMC2 (Q13753), BP180 (Q9UMD9), BP230 (SEQ ID NO8 aus EP3260864, hier aufgeführt als SEQ ID NO 28), Desmoglein 1 (Q02413), Desmoglein 3 (P32926), Envoplakin (Q92817), Gliadin, bevorzugt ausgewählt aus der Gruppe umfassend LGQQQPFPPQYPQPQPFPSQQPY (SEQ ID NO 29), QLQPFQPELPYPQPQS (SEQ ID NO 30) und QQLPQPEQPQQSFPEQERPF (SEQ ID NO 31) und Kollagen Typ VII (Q02388) oder Varianten davon.

25

30

35

Die erfindungsgemäße Lehre kann jedoch nicht nur unter Verwendung von Polypeptiden oder Nukleinsäuren, genauer einem Polypeptid umfassend die Wildtypsequenz von Laminin

beta-4 oder einer dafür kodierenden Nukleinsäure, die die genauen Sequenzen aufweisen, die in dieser Anmeldung ausdrücklich oder implizit aufgeführt werden, sondern auch unter Verwendung von Varianten solcher Polypeptide oder Nukleinsäuren ausgeführt werden.

5 In einer bevorzugten Ausführungsform, kann der Begriff "Variante", wie hierin verwendet werden, wenigstens ein Fragment oder eine Vollängen-Sequenz bezeichnen, genauer eine oder mehr als eine Aminosäuresequenz oder Nukleinsäuresequenz, die relativ zur Vollängen-Sequenz an einem oder beiden Enden um wenigstens eine oder mehr als eine Aminosäure trunziert ist. Ein solches Fragment umfasst oder kodiert für ein Peptid mit
10 wenigstens 6, 7, 8, 10, 12, 15, 20, 25, 50, 75, 100, 300, 400, 600, 800, 1000 oder 1200 aufeinander folgenden Aminosäuren der Originalsequenz oder einer Variante davon. Die Gesamtlänge der Variante kann wenigstens 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 20, 25, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 200, 300, 400, 500, 600, 800, 1000, 1200, 1500, 1800 oder mehr Aminosäuren betragen. Ein besonders bevorzugtes Fragment ist aus der Gruppe ausgewählt, die SEQ ID
15 NO 8, SEQ ID NO 9, SEQ ID NO 10, SEQ ID NO 11, SEQ ID NO 12, SEQ ID NO 13 und SEQ ID NO 14 und Varianten davon umfasst.

In einer weiteren bevorzugten Ausführungsform bezeichnet der Begriff "Variante" nicht nur wenigstens ein Fragment, sondern auch ein Polypeptid oder Fragment davon, das
20 Aminosäuresequenzen umfasst, die zu wenigstens 40, 50, 60, 70, 75, 80, 85, 90, 92, 94, 95, 96, 97, 98 oder 99 % identisch zur Aminosäuresequenz oder des Fragments davon sind, auf die oder das ausdrücklich Bezug genommen wurde, wobei andere Aminosäuren als die für die biologische Aktivität essenziellen, beispielsweise die Fähigkeiten eines Antigens, an den (Auto)Antikörper zu binden, oder die Faltung oder Struktur des Polypeptides, deletiert
25 oder substituiert wurden und/oder eine oder mehr als eine solche essenzielle Aminosäure auf konservative Weise ersetzt und/oder Aminosäuren derart hinzugefügt wurden, dass die biologische Aktivität des Polypeptides beibehalten wird. Der Stand der Technik umfasst verschiedene Verfahren, die verwendet werden können, um zwei gegebene Nukleinsäuren- oder Aminosäuren-Sequenzen zu alignen und das Ausmaß ihrer Identität zu berechnen,
30 siehe zum Beispiel Arthur Lesk (2008), Introduction to bioinformatics, Oxford University Press, 2008, 3rd edition. In einer bevorzugten Ausführungsform wird die ClustalW- Software unter Verwendung der Grundeinstellungen eingesetzt (Larkin, M. A., Blackshields, G., Brown, N. P., Chenna, R., McGettigan, P. A., McWilliam, H., Valentin, F., Wallace, I. M., Wilm, A., Lopez, R., Thompson, J. D., Gibson, T. J., Higgins, D. G. (2007). Clustal W and
35 Clustal X version 2.0. Bioinformatics, 23, 2947-2948).

In einer bevorzugten Ausführungsform ist die Variante ein lineares, nicht gefaltetes Polypeptid, das optional denaturiert ist.

In einer bevorzugten Ausführungsform können das Polypeptid und Varianten davon zusätzlich chemische Modifikationen enthalten, zum Beispiel isotopische Markierungen oder kovalente Modifikationen wie eine Glykosylierung, Phosphorylierung, Acetylierung, Decarboxylierung, Citrullinierung, Methylierung, Hydroxylierung und dergleichen. Der Fachmann ist mit Verfahren vertraut, um Polypeptide zu modifizieren. Jegliche Modifikation wird derart gestaltet, dass sie die biologische Aktivität der Variante nicht aufhebt.

Darüber hinaus können Varianten auch durch N-terminale und/oder C-terminale Fusion mit anderen Polypeptiden, Peptiden oder Aminosäuren oder Varianten davon generiert werden und aktive Teile oder Domänen umfassen, zum Beispiel mit einer Sequenzidentität von wenigstens 70, 75, 80, 85, 90, 92, 94, 95, 96, 97, 98 oder 99 %, wenn sie mit dem aktiven Teil der Wildtypsequenz aligned werden, wobei der Begriff "aktiver Teil" wie hierin verwendet, die Aminosäuresequenz bezeichnet, die kürzer als die Vollängen-Aminosäuresequenz ist, oder, im Falle einer Nukleinsäuresequenz, für weniger als die Vollängen-Aminosäuresequenz kodiert, und/oder eine Variante der natürlichen Sequenz ist, aber wenigstens ein Teil der biologischen Aktivität behält. Anfusionsierte Sequenzen sind so ausgestaltet, dass sie die Bindung des Autoantikörpers an das Laminin beta-4 oder die Variante davon nicht stören, insbesondere nicht an die Epitope, die die Sequenzen SEQ ID NO 8, SEQ ID NO 9, SEQ ID NO 10, SEQ ID NO 11, SEQ ID NO 12, SEQ ID NO 13 und SEQ ID NO 14 und Varianten davon umfassen. Geeignet ist z.B. ein Tag, beispielsweise aus der Gruppe umfassend GST, His, MBP und FLAG, das direkt oder über einen flexiblen Linker N-terminal und/oder C-terminal anfusionsiert ist.

In einer bevorzugten Ausführungsform umfasst der Begriff "Variante" Nukleinsäuren des komplementären Stranges, der unter stringenten Bedingungen, an die Referenz- oder Wildtyp- Nucleinsäure hybridisiert. Die Stringenz von Hybridisierungsreaktionen kann von dem Fachmann leicht bestimmt werden und ist im Allgemeinen eine empirische Berechnung, die von der Sondenlänge, den Waschtemperaturen und der Salzkonzentration abhängt. Im Allgemeinen gilt, dass längere Sonden höhere Temperaturen zum spezifischen Annealen benötigen, wohingegen kürzere Sonden weniger hohe Temperatur benötigen. Die Hybridisierung hängt im Allgemeinen von der Fähigkeit einer denaturierten DNA ab, erneut an den komplementären Strang in einer Umgebung unterhalb ihrer Schmelztemperatur zu hybridisieren. Je höher das Ausmaß der erforderlichen Homologie zwischen der Sonde und

der hybridisierfähigen Sequenz, desto höher die relative Temperatur die verwendet werden kann. Als Ergebnis würden höhere relative Temperaturen dazu tendieren, die Reaktionsbedingungen stringenter zu gestalten, während eine geringere Temperatur dies in einem geringeren Grad bewirkt. Für zusätzliche Details und Erklärungen zur Stringenz und Hybridisierungsreaktion siehe Ausubel, F. M. (1995), *Current Protocols in Molecular Biology*. John Wiley & Sons, Inc. Darüber hinaus kann der Fachmann den Instruktionen folgen, die im Manual von Boehringer Mannheim GmbH (1993) (*The DIG System Users Guide for Filter Hybridization*, Boehringer Mannheim GmbH, Mannheim, Germany) and in Liebl, W., Ehrmann, M., Ludwig, W., and Schleifer, K. H. (1991) *International Journal of Systematic Bacteriology* 41: 255-260) zur Frage, wie DNA-Sequenzen mittels Hybridisierung identifiziert werden können. In einer bevorzugten Ausführungsform werden stringente Bedingungen für jegliche Hybridisierung angewandt, d.h. eine Hybridisierung tritt auf, wenn die Sonde zu 70% oder mehr zur Zielsequenz identisch ist. Sonden mit einem geringeren Ausmaß an Identität mit Hinblick auf die Zielsequenz können hybridisieren, aber solche Hybride sind instabil und werden in einem Waschschrift unter stringenten Bedingungen entfernt, zum Beispiel durch Erniedrigen der Salzkonzentration auf 2 x SSC oder optional und dann nachfolgend 0,5 x SSC, während die Temperatur, mit zunehmender Bevorzugtheit, ungefähr 50°C - 68°C, ungefähr 52°C - 68°C, ungefähr 54°C - 68°C, ungefähr 56°C - 68°C, ungefähr 58°C - 68°C, ungefähr 60°C - 68°C, ungefähr 62°C - 68°C, ungefähr 64°C - 68°C, ungefähr 66°C - 68°C beträgt. In einer besonderen bevorzugten Ausführungsform beträgt die Temperatur ungefähr 64°C - 68°C oder bevorzugt 66°C - 68°C. Es ist möglich, die Salzkonzentration auf 0.2 x SSC oder selbst 0.1 x SSC anzupassen. Nukleinsäuresequenzen mit einem Identitätsausmaß mit Hinblick auf die Referenz- oder Wildtyp Sequenz von wenigstens 70, 80, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99 % können isoliert werden. In einer bevorzugten Ausführungsform bezeichnet der Begriff "Variante einer Nukleinsäuresequenz", wie hierin verwendet, eine jegliche Nukleinsäuresequenz, die für die gleiche Aminosäuresequenz und Varianten davon wie die Referenz-Nukleinsäuresequenz kodiert, entsprechend der Degeneriertheit des genetischen Codes.

Die Variante des Polypeptides weist biologische Aktivität auf. In einer bevorzugten Ausführungsform handelt es sich dabei um die Fähigkeit, an einen Autoantikörper gegen Laminin beta-4 zu binden, wie er in einem Patienten gefunden wird, der an einer Autoimmunkrankheit leidet, die mit einem solchen Autoantikörper assoziiert ist, bevorzugt Anti-p200-Pemphigoid. Ob z.B. eine Variante von Laminin beta-4 eine solche biologische Aktivität hat, kann durch den Nachweis geklärt werden, ob sie an einen Autoantikörper aus einer Patientenprobe bindet, bevorzugt durch Westernblotting und/oder indirekte

Immunfluoreszenz, bevorzugt indirekte Immunfluoreszenz, unter Verwendung von rekombinanten Proteinen wie in den Beispielen beschrieben. Die Erfinder haben zudem die gegenüber einem Autoantikörper gegen Laminin beta-4 reaktive Sequenzen SEQ ID NO 8, SEQ ID NO 9, SEQ ID NO 10, SEQ ID NO 11, SEQ ID NO 12, SEQ ID NO 13 und SEQ ID NO 14 identifiziert. Varianten von Laminin beta-4, an die ein solcher Autoantikörper bindet, lassen sich also leicht erzeugen, indem ein Epitop aus der Laminin beta-4-Sequenz generiert wird, das wenigstens eine dieser Sequenzen umfasst, wobei optional zusätzliche Varianten durch konservative Substitutionen von Aminosäureresten erzeugt werden können.

Das erfindungsgemäße Polypeptid kann in jeglicher Form und jeglicher Aufreinigungsstufe bereitgestellt werden, von flüssigen Proben, Geweben oder Zellen, die das Polypeptid in einer endogenen Form umfassen, bevorzugter Zellen, die das Polypeptid überexprimieren, kruden oder angereicherten Lysaten solcher Zellen, bis zu gereinigtem und/oder isoliertem Polypeptid, das optional im Wesentlichen rein ist. In einer bevorzugten Ausführungsform ist das Polypeptid ein natives Polypeptid, wobei der Begriff "natives Polypeptid", wie hierin verwendet, ein gefaltetes Polypeptid, bevorzugter ein gefaltetes Polypeptid aufgereinigt aus Geweben oder Zellen, bevorzugter aus Säugetierzellen oder -geweben, optional aus nicht-rekombinanten Geweben oder Zellen darstellt. In einer weiteren bevorzugten Ausführungsform ist das Polypeptid ein rekombinantes Protein, wobei der Begriff "rekombinant", wie hierin verwendet, ein Polypeptid bedeutet, das unter Verwendung von gentechnischen Methoden bei einer beliebigen Phase des Herstellungsprozesses hergestellt wurde, zum Beispiel durch Fusionieren einer Nukleinsäure, die für das Polypeptid kodiert, an einen starken Promotor zur Überexpression in Zellen oder Geweben oder durch Verändern der Polypeptid-Sequenz selbst. Der Fachmann ist mit Verfahren zum gentechnischen Verändern von Nukleinsäuren und von ihnen kodierten Polypeptiden vertraut (zum Beispiel beschrieben in Sambrook, J., Fritsch, E. F. and Maniatis, T. (1989), *Molecular Cloning*, CSH or in Brown T. A. (1986), *Gene Cloning – an introduction*, Chapman & Hall), sowie mit Methoden zum Produzieren und Aufreinigen nativer oder rekombinanter Proteine (zum Beispiel Handbooks „Strategies for Protein Purification“, „Antibody Purification“, „Purifying Challenging Proteins“ (2009/2010), published by GE Healthcare Life Sciences, and in Burgess, R. R., Deutscher, M. P. (2009), *Guide to Protein Purification*). In einer bevorzugten Ausführungsform ist ein Polypeptid rein, wenn wenigstens 60, 70, 80, 90, 95 oder 99 % des Gesamtpolypeptides in der entsprechenden Probe aus dem Polypeptid besteht, wie mittels SDS-Polyacrylamid-Gelelektrophorese gefolgt von Coomassie Blau-Färbung und Abschätzung mit dem bloßen Auge beurteilt wird. Falls das erfindungsgemäße Polypeptid in Form eines Gewebe bereitgestellt wird, ist bevorzugt, dass das Gewebe ein Säugetier-

Gewebe ist, zum Beispiel Gewebe vom Menschen, vom Primaten, vom Esel, von der Ziege, vom Pferd, vom Schaf, vom Schwein, oder von der Kuh, bevorzugt Hautgewebe. Wenn das Polypeptid in Form einer rekombinanten Zelle bereitgestellt wird, ist bevorzugt, dass die rekombinante Zelle eine eukaryotische Zelle wie eine Hefezelle ist, bevorzugter eine Zelle aus einem multizellulären Eukaryonten wie einer Pflanze, einem Säugetier, Frosch oder Insekt, am bevorzugtesten aus einem Säugetier, zum Beispiel Ratte, Mensch, Primat, Esel, Maus, Ziege, Pferd, Schaf, Schwein oder Kuh.

Das Polypeptid zum Ausführen der erfindungsgemäßen Lehre ist bevorzugt derart beschaffen, dass es wenigstens ein Epitop umfasst, das von dem Autoantikörper erkannt wird, der an Laminin beta-4 bindet, oder dass es an ihn spezifisch bindet. Das Epitop ist bevorzugt ein Epitop, das nur von solch einem Autoantikörper erkannt wird und nicht von anderen Antikörpern, wie Autoantikörpern gegen Laminin gamma-1, BP180, BP230, Desmoglein 1, Desmoglein 3, Envoplakin, Gliadin, Laminin 332 oder Kollagen Typ VII. In einer solchen Ausführungsform umfasst ein solches Epitop einen Abschnitt von 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 20, 25, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100 oder mehr, bevorzugt wenigstens 9, aber nicht mehr als 16, aufeinanderfolgenden Aminosäuren aus Laminin beta-4. Der Fachmann ist vertraut mit Richtlinien zum Entwerfen von Peptiden, die ausreichend Immunogenität haben, zum Beispiel wie sie in Jackson *et al.* (Jackson, D. C., Fitzmaurice, C. J., Brown, L. E., Zeng, W. (1999), Preparation and properties of totally synthetic immunogenes, Vaccine Volume 18, Issues 3–4, September 1999, Pages 355–361; and Black, M., Trent, A., Tirrell, M. and Olive, C. (2010), Advances in the design and delivery of peptide subunit vaccines with a focus on Toll-like receptor agonists, Expert Rev Vaccines, 2010 February; 9(2): 157–173) beschrieben sind.

Das erfindungsgemäße Polypeptid, das Laminin beta-4 oder eine Variante davon umfasst, kann zur Ausführung der vorliegenden Erfindung in jeglicher Konformation bereitgestellt werden. Zum Beispiel kann das Polypeptid ein im Wesentlichen ungefaltetes, oder teilweise oder voll gefaltetes Polypeptid darstellen. In einer bevorzugten Ausführungsform ist das Polypeptid in den Sinne gefaltet, dass das oder die für das Binden an den erfindungsgemäßen Autoantikörper erforderliche Epitop bzw. erforderlichen Epitope in seiner oder ihrer Gesamtheit, die Faltung nimmt bzw. annehmen, die das native Protein in seiner natürlichen Umgebung annimmt. Der Fachmann auf dem Gebiet ist mit Verfahren vertraut, die zum Bestimmen eingesetzt werden können, ob das Polypeptid gefaltet ist, und wenn es gefaltet ist, welche Struktur es annimmt, zum Beispiel limitierte Proteolyse, NMR-Spektroskopie, CD-Spektroskopie oder Röntgen-Kristallografie (siehe zum Beispiel

Banaszak L. J. (2008), Foundations of Structural Biology, Academic Press, or Teng Q. (2013), Structural Biology: Practical Applications, Springer), wobei bevorzugt CD-Spektroskopie verwendet wird.

5 Das erfindungsgemäße Polypeptid kann ein Fusionsprotein sein, das C-terminal und/oder N-terminal andere Aminosäuren und/oder -sequenzen als die aus Laminin beta-4 umfasst, insbesondere ein C-terminales oder N-terminales Tag, bevorzugt ein C-terminales Tag, das in einer bevorzugten Ausführungsform, wie hierin verwendet wird, ein zusätzliches Sequenzmotiv oder ein Polypeptid umfasst, die irgendeine biologische oder physikalische
10 Funktion aufweist, und zum Beispiel umgesetzt werden kann, um das erfindungsgemäße Polypeptid aufzureinigen, zu immobilisieren, zu präzipitieren oder zu identifizieren. In einer bevorzugteren Ausführungsform ist der Tag eine Sequenz oder Domäne, der in der Lage ist, spezifisch an einen Liganden zu binden, zum Beispiel ein Tag ausgewählt aus der Gruppe umfassend His-Tags, Thioredoxin, Maltose bindendes Protein, Glutathion-S-Transferase, ein
15 Fluoreszenz Tag, zum Beispiel aus der Gruppe umfassend grünes fluoreszierendes Protein (GFP).

Das erfindungsgemäße Polypeptid kann ein immobilisiertes Polypeptid sein. In einer bevorzugten Ausführungsform bezeichnet der Begriff "immobilisiert", wie hierin verwendet,
20 ein Molekül, das an einen festen Träger gebunden ist, der in einer wässrigen Lösung unlöslich ist, bevorzugt über eine kovalente Bindung, elektrostatische Interaktion, Einkapselung oder Einschluss, zum Beispiel durch Denaturierung eines globulären Polypeptides in einem Gel, oder über hydrophobe Interaktion, am bevorzugtesten über eine oder mehr als eine kovalente Bindung. Verschiedene geeignete Träger, zum Beispiel Papier,
25 Polystyrol, Metall, Silikon oder Glasoberflächen, mikrofluidische Kanäle, Membranen, Beads wie magnetische Beads, Chromatographie-Säulenmedien, Biochips, Polyacrylamid Gele und dergleichen sind in der Literatur beschrieben, zum Beispiel in Kim, D., and Herr, A. E. (2013), Protein immobilization techniques for microfluidic assays, Biomicrofluidics 7(4), 041501. Auf diese Weise kann das immobilisierte Molekül zusammen mit dem unlöslichen Träger von
30 einer wässrigen Lösung auf einfache Weise getrennt werden, zum Beispiel durch Filtrierung, Zentrifugieren oder Dekantieren. Ein immobilisiertes Molekül kann reversibel oder irreversibel immobilisiert sein. Zum Beispiel ist die Immobilisierung reversibel, wenn das Molekül mit dem Träger über eine ionische Interaktion interagiert, die durch Hinzufügen einer hohen Konzentration eines Salzes maskiert werden kann, oder wenn das Molekül über eine
35 spaltbare kovalente Bindung wie eine Disulfidbrücke gebunden ist, die durch Hinzufügen von Thiol enthaltenden Reagenzien gespalten werden kann. Im Gegensatz dazu ist die

Immobilisierung irreversibel, wenn das Molekül an dem Träger über eine kovalente Bindung befestigt ist, die nicht in wässriger Lösung gespalten werden kann, zum Beispiel eine Bindung, die durch Reaktion einer Epoxidgruppe und einer Aminogruppe gebildet wird, wie sie häufig verwendet wird, um Lysinseitenketten an Affinitätsäulen zu binden. Das Protein kann indirekt immobilisiert werden, zum Beispiel durch Immobilisieren eines Antikörpers oder einer anderen Einheit mit Affinität an das Molekül, gefolgt von Bildung eines Komplexes mit der Wirkung, dass der Molekül-Antikörper Komplex immobilisiert ist. Verschiedene Möglichkeiten zum Immobilisieren von Molekülen sind in der Literatur beschrieben, zum Beispiel in Kim, D., Herr, and A. E. (2013), Protein immobilization techniques for microfluidic assays, *Biomicrofluidics* 7(4), 041501. Zusätzlich sind verschiedene Reagenzien und Kits für Immobilisierungsreaktionen im Handel erhältlich, zum Beispiel von Pierce Biotechnology.

Es ist notwendig, dass die zur Diagnose im Wege des Nachweises von Autoantikörpern gemäß der vorliegenden Erfindung eingesetzte Probe Antikörper aufweist, die auch als Immunglobuline bezeichnet werden. Typischerweise umfasst die Probe einer Körperflüssigkeit eine repräsentative Auswahl der Gesamtheit der Immunglobuline des Patienten. Nach dem Bereitstellen kann die Probe jedoch weiteren Prozessierungsschritten unterworfen werden, die Fraktionierung, Zentrifugation, Anreicherung oder Isolierung der Gesamtheit der Immunglobuline oder einer bestimmten Immunglobulinklasse des Patienten umfassen können und die relative Verteilung der Immunglobuline der verschiedenen Klassen beeinflussen können.

Die Reagenzien, Vorrichtungen, Verfahren und Verwendungen, die in dieser Anmeldung beschrieben sind, können zur Diagnose einer Krankheit verwendet werden. In einer bevorzugten Ausführungsform ist die Krankheit eine Autoimmunkrankheit, noch bevorzugter eine Autoimmunkrankheit der Haut und/oder des Auges. Solche Krankheiten zeichnen sich durch ein überlappendes Spektrum an Symptomen aus, darunter Blasen, Rötungen und Blutungen sowie Folgeerkrankungen wie eine Infektion der betroffenen Stellen. Dementsprechend ist auch eine Diagnose, diagnostische Differenzierung von oder indirekte Diagnose einer Infektionen der Haut, des Auges oder einer Allergie möglich. Bei der Autoimmunkrankheit handelt es sich besonders bevorzugt um eine aus der Gruppe umfassend Anti-p200-Pemphigoid, Anti-Laminin 332 Schleimhautpemphigoid, Epidermolysis bullosa acquisita, BP und PV.

In einer bevorzugten Ausführungsform bezeichnet der Begriff "Diagnose", wie hierin verwendet, eine jegliche Prozedur, die darauf abzielt, Informationen zu erhalten, die für die

Einschätzung, ob ein Patient an einer bestimmten Krankheit oder Störung in der Vergangenheit, zur Zeit der Diagnose oder in der Zukunft leidet bzw. mit höherer Wahrscheinlichkeit als die durchschnittliche Vergleichsperson, bevorzugt mit ähnlichen Symptomen, leiden wird, um herauszufinden, wie die Krankheit fortschreitet oder
5 wahrscheinlich in der Zukunft fortschreiten wird, oder um das Ansprechen eines Patienten auf eine bestimmte Behandlung zu evaluieren, beispielsweise die Verabreichung von Immunsuppressiva. In anderen Worten umfasst der Begriff "Diagnose" nicht nur das Diagnostizieren, sondern auch das Prognostizieren und/oder das Überwachen des Verlaufs einer Krankheit oder Störung.

10 In vielen Fällen ist das bloße Nachweisen, in anderen Worten das Bestimmen, ob nachweisbare Konzentrationen des Antikörpers in der Probe vorhanden sind oder nicht, für die Diagnose ausreichend. Wenn der Autoantikörper nachgewiesen werden kann, ist dies eine Information, die für die Diagnose des Arztes wichtig ist und anzeigt, dass seine erhöhte
15 Wahrscheinlichkeit besteht, dass der Patient an der Krankheit leidet. Bevorzugt kann diese Information oder ein Signal, das diese Information beinhaltet, an einen Patienten oder den ihn behandelnden Arzt schriftlich, telefonisch oder elektronisch kommuniziert werden, beispielsweise über das Internet, z.B. als Email. Die ermöglicht den Arzt in einer besonders bevorzugten Ausführungsform, eine diagnostisch nützliche Schlussfolgerung zu ziehen und
20 optional bei der Behandlung des Patienten zu berücksichtigen. In einer bevorzugten Ausführungsform gilt der Autoantikörper als nachweisbar, wenn er unter Verwendung von einem oder mehr als einem Verfahren ausgewählt aus der Gruppe umfassend Immunpräzipitation, indirekte Immunfluoreszenz, ELISA oder Blot, bevorzugt Blot nachgewiesen werden kann. Die experimentellen Details sind wie in dem experimentellen
25 Teil dieser Anmeldung beschrieben oder wie in Lehrbüchern oder praktischen Protokollen beschrieben, wie sie zum frühesten Prioritätstag dieser Anmeldung verfügbar waren. In einer bevorzugten Ausführungsform, wird die relative Konzentration des Antikörpers im Serum bestimmt, im Vergleich zur Konzentration, die in einer durchschnittlichen gewöhnlichen Person gefunden werden. Während es in vielen Fällen ausreichend ist, festzustellen, ob die
30 Autoantikörper in der Probe vorhanden oder nachweisbar sind, kann das Verfahren zum Erhalten nützlicher Informationen für die Diagnose umfassen, dass bestimmt wird, ob die Konzentration wenigstens 0.1, bevorzugt 0.2, 0.5, 1, 2, 5, 10, 20, 25, 50, 100, 200, 500, 1000, 10000 oder 100000 Mal höher als die Konzentration ist, die in der gewöhnlichen gesunden Person gefunden wird. In einer bevorzugten Ausführungsform, wird die relative
35 Konzentration des Autoantikörpers unter Verwendung von einem oder mehr als einem Verfahren bestimmt, das aus der Gruppe umfassend semi-quantitative Immunpräzipitation,

semi-quantitative indirekte Immunfluoreszenz, ELISA oder Line Blot, bevorzugt ELISA ausgewählt ist.

Die vorliegende Erfindung betrifft ein Komplex umfassend einen Antikörper, bevorzugt Autoantikörper, der gegen das erfindungsgemäße Polypeptid bindet. Ein solcher Komplex kann verwendet oder als Teil eines Verfahrens zum Diagnostizieren einer Krankheit nachgewiesen werden. Es kann eine flüssige Probe umfassend Antikörper von einem Patienten verwendet werden, um das Verfahren auszuführen, bei dem ein Autoantikörper gegen Laminin beta-4 nachzuweisen ist. Eine solche flüssige Probe kann irgendeine Körperflüssigkeit umfassend eine repräsentative Auswahl an Antikörpern aus der Person umfassen, bevorzugt eine Probe umfassend Antikörper der Immunglobulinklasse IgG von der Person. Zum Beispiel kann eine Probe Liquor, Blut oder Blutserum, Lymphflüssigkeit, interstitielle Flüssigkeit sein und ist bevorzugt Serum oder Liquor, bevorzugter Serum.

Der Schritt Kontaktieren einer flüssigen Probe umfassend Antikörper mit dem erfindungsgemäßen Polypeptid kann durch Inkubieren einer immobilisierten Form des Polypeptides in Anwesenheit der Probe, der Antikörper umfassenden Probe unter Bedingungen ausgeführt werden, die mit der Bildung eines Komplexes umfassend das Polypeptid und einen Antikörper, bevorzugt Autoantikörper, kompatibel sind, der oder die an das erfindungsgemäße Polypeptid bindet. Die flüssige Probe, in der Antikörper, die gegen das oder die erfindungsgemäßen Polypeptid(e) binden, abgereichert sind, kann anschließend entfernt werden, gefolgt von einem oder mehr als einem Waschschrift. Schließlich kann der Komplex umfassend den Antikörper oder die Antikörper und das Polypeptid oder die Polypeptide nachgewiesen werden. In einer bevorzugten Ausführungsform bezeichnet der Begriff "Bedingungen, die mit der Bildung des Komplexes kompatibel sind" Bedingungen, die das Ausbilden der spezifischen Antigen-Antikörper Interaktionen zum Aufbau des Komplexes umfassend das Polypeptid und den Antikörper gestatten. In einer bevorzugten Ausführungsform können solche Bedingungen das Inkubieren des Polypeptides in einer Probe verdünnt 1:100 in PBS-Puffer 30 Minuten lang bei 25 °C umfassen. In einer bevorzugten Ausführungsform bedeutet der Begriff "Autoantikörper", wie hierin verwendet, einen Antikörper, der spezifisch an ein endogenes Molekül des Tieres, bevorzugt Säugetieres, bindet, das den Autoantikörper selbst herstellt, wobei die Konzentration des Autoantikörpers bevorzugt gegenüber dem Durchschnitt irgendwelcher Antikörper, die gegen ein solches endogenes Molekül binden, bevorzugt gegenüber einer gesunden Person, erhöht ist. In einer bevorzugtesten Ausführungsform ist der Autoantikörper ein Autoantikörper gegen Laminin beta-4.

Das erfindungsgemäße Verfahren ist bevorzugt ein *in vitro*-Verfahren.

5 In einer bevorzugten Ausführungsform umfasst der Nachweis des Komplexes für die Prognose, Diagnose, Verfahren oder den Testkit gemäß der vorliegenden Erfindung die Verwendung eines Verfahrens ausgewählt aus der Gruppe umfassend Immundiffusions-Tests, immunoelektrophoretische Tests, Lichtstreuungs-Immuntests, Agglutinations-Tests, Immuntests mit Markierungen wie die aus der Gruppe umfassend radiomarkierte Immuntests, Enzymimmuntests, bevorzugt ELISA, Chemilumineszenz Immuntests und
10 Immunfluoreszenztests, bevorzugt indirekte Immunfluoreszenztests. Der Fachmann ist mit solchen Verfahren vertraut, und sie sind im Stand der Technik beschrieben, zum Beispiel in Zane, H. D. (2001), Immunology – Theoretical & Practical Concepts in Laboratory Medicine, W. B. Saunders Company, besonders in Kapitel 14.

15 Alternativ kann eine Gewebeprobe, d.h. bevorzugt eine Probe umfassend Gewebe, umfassend das erfindungsgemäße Polypeptid statt einer flüssigen Probe verwendet werden, insbesondere Spalthaut, die hergestellt werden kann, wie im Stand der Technik beschrieben ist (Zillikens, D., Kawahara, Y., Ishiko, A., Shimizu, H., Mayer, J., Rank, C. V., Liu, Z., Giudice, G. J., Tran, H. H., Marinkovich, M. P., Brocker, E. B., and Hashimoto, T., A novel
20 subepidermal blistering disease with autoantibodies to a 200-kDa antigen of the basement membrane zone. J Invest Dermatol, 1996. 106(6): p. 1333-8.). Die Gewebeprobe stammt bevorzugt aus einem Gewebe umfassend endogenes Laminin beta-4, bevorzugt exprimierend das Polypeptid in einem erhöhten Ausmaß gegenüber dem durchschnittlichen Gewebe in dem entsprechenden Organismus, bevorzugt dem menschlichen Körper. Eine
25 solche Probe, die dann in der Form eines Gewebeschnittes fixiert auf einem Träger, zum Beispiel einem Objektträger für mikroskopische Analysen, vorliegen kann, kann dann mit dem erfindungsgemäßen Antikörper, bevorzugt Autoantikörper, der gegen das erfindungsgemäße Polypeptid bindet, kontaktiert werden. Der Antikörper wird bevorzugt markiert, um die Unterscheidung von endogenem Autoantikörper zu ermöglichen, der gegen
30 das erfindungsgemäße Polypeptid bindet, sodass neu gebildete Komplexe mit Autoantikörpern aus einer nachfolgend kontaktierten Probe, die mit dem ersten Antikörper konkurrieren, nachgewiesen und optional quantifiziert werden können. Wenn die Zahl der neu gebildeten Komplexe höher ist als die Zahl, die mit einer Probe von einer gesunden Person gefunden wird, ist es wahrscheinlich, dass die Person, von der die untersuchte Probe
35 erhalten wurde, an der Krankheit leidet.

Jegliche Daten, die die Anwesenheit oder Abwesenheit des Komplexes umfassend den Antikörper und das erfindungsgemäße Polypeptid zeigen, können mit Referenzdaten verglichen werden. Zum Beispiel zeigt das Nachweisen des Komplexes an, dass der Patient, von dem die analysierte Probe erhalten wurde, an einer Krankheit litt, an ihr leidet oder in der Zukunft wahrscheinlich an der Krankheit leidet. Wenn ein Patient zuvor diagnostiziert wurde und das Verfahren zum Erhalten diagnostisch relevanter Informationen wieder durchgeführt wird, kann die Menge des Komplexes, die bei beiden Durchgängen erhalten wurden, korreliert werden, um das Fortschreiten der Krankheit und/oder den Erfolg einer Behandlung herauszufinden. Wird zum Beispiel gefunden, dass die Menge des Komplexes zugenommen hat, legt dies nahe, dass die Krankheit fortschreitet, sich wahrscheinlich in der Zukunft manifestieren wird und/oder dass eine versuchte Behandlung nicht erfolgreich ist und umgekehrt. Der erstmalige Nachweis des Komplexes zeigt an, dass der Patient, von dem die Probe stammt, unter einem hohen oder erhöhten Risiko leidet, die Krankheit in Zukunft zu entwickeln.

In einer bevorzugten Ausführungsform wird eine Mikrotiterplatte, eine Membran, ein Blot wie ein Dotblot oder Linienblot eingesetzt, um das diagnostische Verfahren gemäß der Erfindung auszuführen. Der Fachmann ist mit dem experimentellen Aufbau vertraut, und dieser ist im Stand der Technik beschrieben (Raoult, D., and Dasch, G. A. (1989), The line blot: an immunoassay for monoclonal and other antibodies. Its application to the serotyping of gram-negative bacteria. *J. Immunol. Methods*, 125 (1- 2), 57-65; WO2013041540).

In einer weiteren bevorzugten Ausführungsform ist für die Prognose, Diagnose, die Verfahren oder der Kit gemäß der erfindungsgemäßen Lehre die Verwendung von indirekter Immunfluoreszenz vorgesehen. Der Fachmann ist mit derartigen Techniken und der Zubereitung geeigneter Proben vertraut, und diese sind im Stand der Technik beschrieben (US4647543; Voigt, J., Krause, C., Rohwäder, E., Saschenbrecker, S., Hahn, M., Danckwardt, M., Feirer, C., Ens, K, Fechner, K, Barth, E, Martinetz, T., and Stöcker, W. (2012), Automated Indirect Immunofluorescence Evaluation of Antinuclear Autoantibodies on HEp-2 Cells," *Clinical and Developmental Immunology*, vol. 2012, doi:10.1155/2012/65105; Bonilla, E., Francis, L., Allam, F., *et al.*, Immuno-fluorescence microscopy is superior to fluorescent beads for detection of antinuclear antibody reactivity in systemic lupus erythematosus patients, *Clinical Immunology*, vol. 124, no. 1, pp. 18–21, 2007). Geeignete Reagenzien, Vorrichtungen und Softwarepakete sind im Handel erhältlich, zum Beispiel von EUROIMMUN, Lübeck, Deutschland.

Gemäß der erfindungsgemäßen Lehre, wird ein Antikörper, bevorzugt ein Autoantikörper, der gegen das erfindungsgemäße Polypeptid bindet, das für die Diagnose einer Krankheit verwendet wird, bereitgestellt. Der Fachmann auf dem Gebiet ist vertraut mit Verfahren zum Aufreinigen von Antikörpern, zum Beispiel denjenigen, die in Hermanson, G. T., Mallia, A. K.,
5 and Smith, P. K. (1992), Immobilized Affinity Ligand Techniques, San Diego: Academic Press, beschrieben sind. Kurz gesagt wird ein Antigen, das spezifisch gegen den interessierenden Autoantikörper bindet, wobei das Antigen das erfindungsgemäße Polypeptid ist, immobilisiert und verwendet, um über Affinitätschromatografie den interessierenden Autoantikörper aus einer geeigneten Quelle aufzureinigen. Eine flüssige
10 Probe umfassend Antikörper aus einem Patienten, der an neurologischer Störung beziehungsweise Krankheit leidet, die mit dem Auftreten des Autoantikörpers assoziiert ist, kann als Quelle herangezogen werden.

Erfindungsgemäß wird ein Antikörper, zum Beispiel ein Autoantikörper bereitgestellt, der in
15 der Lage ist, spezifisch an das erfindungsgemäße Polypeptid zu binden. In einer bevorzugten Ausführungsform bezeichnet der Begriff "Antikörper", wie hierin verwendet, jegliche Immunglobulin-basierte bindende Einheiten, bevorzugt eine Einheit umfassend wenigstens eine schwere Kette und eine leichte Kette eines Immunglobulins, umfassend, wenn nicht begrenzt auf monoklonale und polyklonale Antikörper wie auch Varianten eines
20 Antikörpers, insbesondere Fragmente, wobei die bindenden Einheiten in der Lage sind, gegen das entsprechende Antigen zu binden, bevorzugter spezifisch an es zu binden. In einer bevorzugten Ausführungsform bedeutet der Begriff "spezifisch binden", wie hierin verwendet, dass die Bindung stärker als eine Bindungsreaktion ist, die durch eine Dissoziationskonstante gekennzeichnet ist, die 1×10^{-5} M, bevorzugter 1×10^{-7} M,
25 bevorzugter 1×10^{-8} M, bevorzugter 1×10^{-9} M, bevorzugter 1×10^{-10} M, bevorzugter 1×10^{-11} M, bevorzugter 1×10^{-12} M beträgt, wie durch Surface Plasmon Resonanz unter Verwendung von Biacore-Ausrüstung bei 25°C in PBS Buffer bei pH 7 bestimmt wird. Der Antikörper ist bevorzugt rekombinant und/oder isoliert. Der erfindungsgemäß nachgewiesene oder bereitgestellte Autoantikörper bindet bevorzugt spezifisch an ein Epitop aus der Sequenz
30 SEQ ID NO 27 umfassend eine oder mehr als eine Sequenz aus der Gruppe umfassend die Sequenzen SEQ ID NO 8, SEQ ID NO 9, SEQ ID NO 10, SEQ ID NO 11, SEQ ID NO 12, SEQ ID NO 13 und SEQ ID NO 14. Der Autoantikörper ist bevorzugt ein IgG-Antikörper.

Der Antikörper kann Teil einer Autoantikörperzubereitung sein, die heterogen ist, oder kann
35 ein homogener Autoantikörper sein, wobei eine heterogene Zubereitung eine Vielzahl von verschiedenen Autoantikörper-Spezies umfasst, wie sie durch Zubereitung aus den Seren

von menschlichen Spendern erhalten werden kann, beispielsweise durch Affinitätschromatografie unter Verwendung des immobilisierten Antigens, zum Aufreinigen irgendeines Autoantikörpers, der in der Lage ist, an das Antigen zu binden. Der Antikörper kann glykosyliert oder nicht glykosyliert sein. Der Fachmann auf dem Gebiet ist mit Verfahren vertraut, die zur Identifizierung, Produktion und Aufreinigung von Antikörpern und Varianten davon eingesetzt werden können, zum Beispiel diejenigen, die in EP 2 423 226 A2 und Referenzen darin beschrieben sind. Der Antikörper kann selbst oder in Kombination als diagnostisches Agens eingesetzt werden, zum Beispiel im Komplex mit dem erfindungsgemäßen Polypeptid.

Die vorliegende Erfindung stellt ein Verfahren zum Isolieren eines Antikörpers bereit, bevorzugt eines Autoantikörpers, der gegen das erfindungsgemäße Polypeptid bindet, umfassend die Schritte a) Kontaktieren einer Probe umfassend den Antikörper mit dem erfindungsgemäßen Polypeptid, derart, dass ein Komplex gebildet wird, b) Isolieren des Komplexes, der in a) gebildet wird, c) Dissoziieren des Komplexes, der in Schritt b) isoliert wurde, und d) Abtrennen des Antikörpers von dem erfindungsgemäßen Polypeptid. Eine Probe von einem Patienten, der an Anti-p200-Pemphigoid leidet, kann als Quelle für den Autoantikörper herangezogen werden. Geeignete Methoden sind im Stand der Technik beschrieben, zum Beispiel in den Handbüchern "Affinitätschromatografie", „Strategies for Protein Purification“ and „Antibody Purification“ (2009/2010), veröffentlicht von GE Healthcare Life Sciences, und in Philips, Terry, M., Analytical techniques in immunochemistry, 1992, Marcel Dekker, Inc.

Die Erfindung stellt eine pharmazeutische Zusammensetzung umfassend das erfindungsgemäße Polypeptid bereit, wobei die Zusammensetzung bevorzugt zur Verabreichung an ein Subjekt geeignet ist, bevorzugt ein Säugetier-Subjekt, bevorzugter ein Mensch. Eine derartige pharmazeutische Zusammensetzung kann einen pharmazeutisch akzeptablen Träger umfassen. Die pharmazeutische Zusammensetzung kann zum Beispiel oral, parenteral, über ein Inhalationsspray, topisch, über Augentropfen, rektal, nasal, bukkal, vaginal oder über ein implantiertes Reservoir verabreicht werden, wobei der Begriff "parenteral", wie hierin verwendet, subkutane, intrakutane, intravenöse, intramuskuläre, intraartikuläre, intrasynoviale, intrasternale, intrathekale, intralesionale und intrakraniale Injektions- oder Infusionstechniken umfasst. Die pharmazeutische Zusammensetzung kann in geeigneten Dosierungsformen bereitgestellt werden, zum Beispiel Kapseln, Tabletten und wässrigen Suspensionen und Lösungen, bevorzugt in steriler Form. Sie kann bei einem

Behandlungsverfahren eingesetzt werden, wobei das Verfahren das Verabreichen einer wirksamen Menge des erfindungsgemäßen Polypeptides an ein Subjekt umfasst.

5 Im Schutzbereich der vorliegenden Erfindung wird eine medizinische oder diagnostische Vorrichtung umfassend, bevorzugt beschichtet mit einem Reagenz zum Detektieren des erfindungsgemäßen (Auto)Antikörpers und/oder das erfindungsgemäße Polypeptid bereitgestellt. Bevorzugt umfasst eine solche medizinische oder diagnostische Vorrichtung das erfindungsgemäße Polypeptid in einer Form, die das Kontaktieren des Polypeptides mit einer wässrigen Lösung, bevorzugter der flüssigen menschlichen Probe, in einer einfachen
10 Weise gestattet. Insbesondere kann das erfindungsgemäße Polypeptid auf der Oberfläche eines Trägers immobilisiert werden, bevorzugt ausgewählt aus der Gruppe umfassend Glasplatten oder -träger, Objektträger, Biochips, Mikrotiterplatten, Beads, zum Beispiel magnetische Beads, Apherese-Vorrichtungen, Chromatographie-Säulen, Membranen oder dergleichen. Beispielhafte medizinische Vorrichtungen umfassen Linienblots,
15 Mikrotiterplatten, Glasträger für Mikroskopie, Beads, bevorzugt magnetische Beads, und Biochips. Zusätzlich zum erfindungsgemäßen Polypeptid kann die diagnostische Vorrichtung weitere Polypeptide umfassen, zum Beispiel Positiv- oder Negativ-Kontrollen wie Proben, die einen Antikörper gegen das interessierende Polypeptid enthalten bzw. nicht enthalten, oder andere bekannte Antigene, die gegen Autoantikörper von diagnostischem Wert binden,
20 insbesondere betreffend andere Krankheiten, die mit einem oder mehr als einem identischen oder ähnlichen Symptom assoziiert sind.

Im Schutzbereich des vorliegenden Erfindung wird auch eine therapeutische Vorrichtung umfassend, bevorzugt beschichtet mit Laminin beta-4 oder einer Variante davon
25 bereitgestellt, die so beschaffen ist, dass der Autoantikörper gegen Laminin beta-4 aus dem Blut eines Patienten entfernt werden kann, wobei die Blutzusammensetzung möglichst wenig verändert und insbesondere möglichst wenig essentielle Komponenten entfernt werden. Dabei kann es sich um eine Apherese-Vorrichtung handeln, bevorzugt zur Plasmapherese. Geeignete Reagenzien und Verfahren sind in der EP17001759.4 und in der WO2007/085240
30 beschrieben, die hierin in ihrer Gesamtheit durch Bezugnahme aufgenommen sind. Im Stand der Technik ist bereits beschrieben, dass die spezifische Immunadsorption zur Behandlung von bullösen Pemphigoid vielversprechend ist (Mersmann *et al.*, Arch Dermatol Res 2015: „Immunoadsorber for specific apheresis of autoantibodies in the treatment of bullous pemphigoid“). Bevorzugt ist die Vorrichtung in dem Sinne sterilisiert, dass ein- und
35 austretendes Blut nur mit sterilisierten Komponenten in Kontakt tritt.

Gemäß der erfindungsgemäßen Lehre wird ein Kit bereitgestellt, bevorzugt zum Diagnostizieren einer Krankheit. Ein solches Kit kann Instruktionen umfassen, die im Detail beschreiben, wie das Kit zu benutzen ist, sowie den erfindungsgemäßen Träger als Mittel zum Kontaktieren des erfindungsgemäßen Polypeptides mit einer Körperflüssigkeitsprobe aus einem Subjekt, bevorzugt einem menschlichen Subjekt. Weiterhin kann das Kit eine Positivkontrolle umfassen, zum Beispiel eine Charge Autoantikörper oder rekombinanten Antikörper, von dem bekannt ist, dass er gegen das Peptid gemäß der vorliegenden Erfindung bindet, oder eine verdünnte Probe eines Patienten umfassend den Autoantikörper. Das Kit kann eine Negativkontrolle enthalten, zum Beispiel ein Protein, das keine nachweisbare Affinität zum erfindungsgemäßen Polypeptid hat, wie Rinderserumalbumin, oder eine Probe von einem Gesunden. Ein solches Kit kann eine oder mehr als eine Standardlösung des Antikörpers zum Erstellen einer Kalibrationskurve umfassen, auch bezeichnet als Kalibrator, wobei der Antikörper ein rekombinanter und/oder monoklonaler Antikörper oder der verdünnte Antikörper aus einer Probe eines Patienten sein kann, bevorzugt gegen ein Epitop aus der Gruppe umfassend SEQ ID NO 8, SEQ ID NO 9, SEQ ID NO 10, SEQ ID NO 11, SEQ ID NO 12, SEQ ID NO 13 und SEQ ID NO 14. Das Kit kann weiterhin einen sekundären Antikörper, bevorzugt mit einer detektierbaren Markierung, aufweisen, der einen Autoantikörper gegen Laminin beta-4 erkennt, bevorzugt einen sekundären Antikörper, der IgG-Antikörper erkennt.

In einer bevorzugten Ausführungsform umfasst das Kit ein Mittel zum Detektieren eines Autoantikörpers, der gegen das erfindungsgemäße Polypeptid bindet, bevorzugt durch Nachweisen eines Komplexes umfassend das erfindungsgemäße Polypeptid und einen Antikörper, der gegen das erfindungsgemäße Polypeptid bindet. Ein solches Mittel ist bevorzugt ein Agens, das gegen den Komplex bindet und den Komplex modifiziert oder eine Markierung trägt, die den Komplex nachweisbar macht. Zum Beispiel kann ein solches Mittel ein markierter Antikörper sein, der gegen das Polypeptid an einer Bindungsstelle bindet, die sich von der Bindungsstelle unterscheidet, an die der primäre Autoantikörper bindet, oder der gegen eine konstante Region des primären Antikörpers bindet. Alternativ kann das Agens ein sekundärer Antikörper gegen Laminin beta-4 sein, der gegen die konstante Region des Autoantikörpers bindet, bevorzugt ein sekundärer Antikörper, der für Säugetier-Antikörper der IgG-Klasse spezifisch ist. Eine Vielzahl von Verfahren und Mitteln zum Nachweisen eines solchen Komplexes ist im Stand der Technik beschrieben, zum Beispiel in Philips, Terry, M., Analytical techniques in immunochemistry, 1992, Marcel Dekker, Inc.

Das Polypeptid umfassend Laminin beta-4 oder eine Variante davon kann hergestellt oder bereitgestellt werden in Form einer Zelle, die eine Nukleinsäure kodierend das Polypeptid umfasst und/oder exprimiert. Wenn eine Nukleinsäure umfassend eine Sequenz, die für das erfindungsgemäße Polypeptid oder eine Variante davon kodiert, verwendet wird, kann eine solche Nukleinsäure eine unmodifizierte Nukleinsäure sein. In einer bevorzugten Ausführungsform ist die Nukleinsäure eine Nukleinsäure, die als solche nicht in der Natur vorkommt und verglichen zu einer natürlichen Nukleinsäure wenigstens eine Modifizierung umfasst, zum Beispiel ein Isotop enthält oder eine chemische Modifizierung, zum Beispiel eine Methylierung, eine Sequenzmodifizierung, eine Markierung oder dergleichen, die den synthetischen Ursprung anzeigt. In einer bevorzugten Ausführungsform ist die Nukleinsäure eine rekombinante Nukleinsäure oder, in einer bevorzugteren Ausführungsform, Teil eines Vektors, in dem sie funktionell verbunden mit einem Promotor ist, der die Expression, bevorzugt Überexpression der Nukleinsäure gestattet. Der Fachmann ist mit einer Vielzahl von geeigneten Vektoren vertraut, die kommerziell erhältlich sind, zum Beispiel von *Origene*. Zum Beispiel kann ein Vektor kodierend für Fusionskonstrukte mit einem C-terminalen GFP verwendet werden. Der Vektor kann einen bakteriellen Replikationsursprung und einen Promotor zur Expression in eukaryontischen, bevorzugt Säugetierzellen aufweisen, beispielsweise einen SV40-Promotor oder Chicken beta-actin Promotor. Die Zelle kann eine eukaryotische oder prokaryotische Zelle sein, bevorzugt eine eukaryotische Zelle, wie beispielsweise eine Hefezelle, und ist bevorzugter eine Säugetierzelle, noch bevorzugter eine menschliche Zelle wie eine HEK293-Zelle. Beispiele für eine Säugetierzelle umfassen HEK293, CHO oder COS-7-Zellen. Die Zelle umfassend die Nukleinsäure kodierend für das erfindungsgemäße Polypeptid kann eine rekombinante Zelle sein oder eine isolierte Zelle, wobei der Begriff "isoliert" bedeutet, dass die Zelle derart angereichert ist, dass in ihrer Umgebung im Vergleich zum Wildtyp der Zelle oder dessen Umgebung weniger Zellen anderer Differenzierung oder Spezies oder tatsächlich gar keine anderen solcher Zellen anwesend sind. Die Zelle oder der Vektor können zur Expression des Polypeptids verwendet werden, gefolgt von dessen Verwendung zu Herstellung einer Zusammensetzung oder eines Kits zur Diagnose einer Autoimmunkrankheit. Die Zelle kann lebende oder eine fixierte, nicht mehr stoffwechselaktive Zelle sein. Das Fixieren von Zellen ist durch Behandlung mit Aceton oder Formalin möglich, wie in Probst *et al.* beschrieben ist (Probst, C. Saschenbrecker, S., Stoecker, W., und Komorowski, L (2014) Anti-neuronal autoantibodies: Current diagnostic challenges, *Multiple Sclerosis and Related Disorders* 3, 303-320).

Die erfindungsgemäße Lehre kann nicht nur für eine Diagnose aber auch zum Verhindern oder zum Behandeln einer Krankheit eingesetzt werden, genauer für ein Verfahren zum

Verhindern oder Behandeln einer Krankheit, umfassend die Schritte a) Verringern der Konzentration von Autoantikörpern, die gegen das erfindungsgemäße Polypeptid binden, im Blut eines Subjekts und/oder b) Verabreichen von einer oder mehr als einer immunsuppressiven pharmazeutischen Substanz, bevorzugt aus der Gruppe umfassend
5 Rituximab, Prednisone, Methylprednisolon, Cyclophosphamid, Mycophenolatemofetil, intravenöse Immunglobuline, FK506, Cyclosporin, Methotrexat, Clobetasolpropionat, Dapson, Tetracyclin, Nicotinamid, Colchicin und Azathioprin.

In einer bevorzugten Ausführungsform stellt die vorliegende Erfindung eine Verwendung
10 eines Mittels oder Reagenz für die Detektion eines Antikörpers gegen Laminin beta-4 oder einer Nukleinsäure umfassend eine Sequenz kodierend Laminin beta-4 oder eine Variante davon oder eines Vektors umfassend diese Sequenz oder einer Zelle umfassend den Vektor oder diese Nukleinsäure zur Herstellung eines Kits für die Diagnose einer Autoimmunkrankheit bereit.

In einer bevorzugten Ausführungsform kann jegliches Verfahren oder jegliche Verwendung gemäß der vorliegenden Erfindung für einen nicht-diagnostischen Zweck beabsichtigt sein, insbesondere Bestimmen der Anwesenheit eines Autoantikörpers gegen Laminin beta-4 für eine andere Verwendung als das Diagnostizieren eines Patienten. Zum Beispiel kann das
20 Verfahren oder die Verwendung zum *in vitro*-Testbestimmen der Effizienz einer medizinischen Vorrichtung bestimmt sein, die dazu gestaltet ist, einen Autoantikörper aus dem Blut eines Patienten zu entfernen, wobei das Testen mit einer Flüssigkeit durchgeführt wird, die nicht Patientenblut ist. In einer bevorzugten Ausführungsform kann ein beliebiges Verfahren und eine beliebige Verwendung gemäß der vorliegenden Erfindung mit der
25 Absicht verwendet werden, ein Autoantikörper-Profil zu generieren, bevorzugt zum Nachweisen einer Krankheit in einem Säugetier, bevorzugt einem Menschen. In einer bevorzugten Ausführungsform kann ein Verfahren oder eine Verwendung zum Nachweisen krankheits-assoziierter Marker in einer Probe aus Patienten verwendet werden, die unter einer Hautkrankheit leiden.

In einer bevorzugten Ausführungsform ist das Verfahren gemäß der vorliegenden Erfindung ein Verfahren zum Kalibrieren eines diagnostischen Testsystems oder zum Bestätigen der Zuverlässigkeit und/oder ausreichenden Kapazität eines solchen Testsystems oder eines therapeutischen Systems zum Entfernen von Autoantikörpern aus dem Blut eines Patienten.
35 Im Falle eines diagnostischen Testsystems, werden Autoantikörper nicht in der Probe eines Patienten nachgewiesen, der zu diagnostizieren ist, aber in einer künstlichen Lösung mit

bekannter Zusammensetzung, insbesondere mit einer definierten, bekannten Konzentration des Antikörpers oder eines rekombinanten Antikörpers von bekannter Konzentration, der gegen das erfindungsgemäße Polypeptid bindet. Das diagnostische System kann jegliches System sein, das den Nachweis von Autoantikörpern in einer Probe gestattet, beispielsweise
5 eine medizinische oder diagnostische Vorrichtung gemäß der vorliegenden Erfindung.

Im Falle eines therapeutischen Systems, z.B. eines Apparates zur Apherese, kann das Verfahren verwendet werden, um ein solches System zu entwickeln und seine Zuverlässigkeit und/oder Effizienz und/oder Kapazität zu testen. Zum Beispiel kann nach
10 einem Aphereselauf oder davor eine Lösung umfassend eine bekannte Konzentration eines Antikörpers der gegen das erfindungsgemäße Polypeptid bindet, mit dem System kontaktiert werden, und das Verfahren gemäß der vorliegenden Erfindung kann eingesetzt werden, um zu bestätigen, dass das System in der Lage ist, den Antikörper aus der Lösung zu entfernen.

15 In einer bevorzugten Ausführungsform wird erfindungsgemäß ein Apparat zum Analysieren einer Probe von einem Patienten bereitgestellt, um einen oder mehr als einen Autoantikörper gegen Laminin beta-4 zu detektieren, wobei der oder die Autoantikörper eine erhöhte Wahrscheinlichkeit anzeigt, dass der Patient unter einer Autoimmunkrankheit leidet, wobei der Apparat folgendes umfasst:

- 20
- a. einen Träger, der ein Mittel zum Einfangen von wenigstens einem Autoantikörper in der Probe umfasst, wenn die Probe mit dem Träger kontaktiert wird,
 - b. ein detektierbares Mittel, das in der Lage ist, an den eingefangenen Antikörper zu
25 binden, wenn das detektierbare Mittel mit dem Träger kontaktiert wird, wobei das detektierbare Mittel bevorzugt ein markierter sekundärer Antikörper ist, der in der Lage ist, an den Antikörper zu binden, der auf dem Träger eingefangen ist,
 - c. optional ein Mittel zum Entfernen einer Probe von dem Träger and zum Entfernen des
30 detektierbaren Mittels, bevorzugt durch Waschen;
 - d. eine Detektiervorrichtung zum Detektieren der Anwesenheit des detektierbaren Mittels und zum Umwandeln der Ergebnisse in ein elektrisches Signal, und

- e. optional ein Mittel zum Empfangen des elektrischen Signals von der Detektiervorrichtung und Bestimmen, ob die Stärke des Signals eine erhöhte Wahrscheinlichkeit einer Autoimmunkrankheit anzeigt, durch Vergleichen der Stärke des Signals mit der Stärke eines Hintergrundsignals oder mit einem eingegebenen Referenzwert, der mit Proben von gesunden Personen erhalten wurde.

Die vorliegende Anmeldung umfasst eine Reihe von Sequenzen neuer Nucleinsäuren oder Polypeptide:

SEQ ID NO 1: Primer sense LAMB4:

ATAGGTCTCACATGCAATTTCAACTGACCCTTTTTTTGCACCTTG

SEQ ID NO 2: Primer asense LAMB4:

ATAGGTCTCGTCGAGGCTATAGCACCTAGCATATTTTTTTTCTTG

SEQ ID NO 3: Primer asense LAMB4-Stop:

ATAGGTCTCCTCGAGCTAGCTATAGCACCTAGCATATTTTTTTTCTTG

SEQ ID NO 4_pTriEx-1 (Standard-Vektor)

GGGGAATTGTGAGCGGATAACAATTCCCCGGAGTTAATCCGGGACCTTTAATTCAACCC
AACACAATATATTATAGTTAAATAAGAATTATTATCAAATCATTGTATATTAATAAAATA
CTATACTGTAAATTACATTTTATTTACAATCAAAGGAGATATACCATGGCGATATCCCGG
GAGCTCGTGGATCCGAATTCTCAGATCTCGGCGCGCCTGCAGGTCGACGGTACCGGTT
CGAAGCTTGCGGCCGCACAGCTGTATACACGTGCAAGCCAGCCAGAACTCGCCCCGGA
AGACCCCGAGGATCTCGAGCACCACCATCACCATCACCATCACTAAGTGATTAACCTCA
GGTGCAGGCTGCCTATCAGAAGGTGGTGGCTGGTGTGGCCAATGCCCTGGCTCACAAA
TACCACTGAGATCGATCTTTTTCCCTCTGCCAAAATTATGGGGACATCATGAAGCCCCT
TGAGCATCTGACTTCTGGCTAATAAAGGAAATTTATTTTCATTGCAATAGTGTGTTGGAAT
TTTTTGTGTCTCTCACTCGGAAGGACATATGGGAGGGCAAATCATTTAAACATCAGAAT
GAGTATTTGGTTTAGAGTTTGGCAACATATGCCCATATGTAAGTAGCATAACCCCTTGGG
GCCTCTAAACGGGTCTTGAGGGGTTTTTGGCTGAAAGCATGCGGAGGAAATTCTCCTTG
AAGTTTCCCTGGTGTTCAAAGTAAAGGAGTTTGCACCAGACGCACCTCTGTTCACTGGT
CCGGCGTATTAACACGATACATTGTTATTAGTACATTTATTAAGCGCTAGATTCTGTG
CGTTGTTGATTTACAGACAATTGTTGTACGATTTTAATAATTCAATAATTTATAATCTTT
AGGGTGGTATGTTAGAGCGAAAATCAAATGATTTTCAGCGTCTTTATATCTGAATTTAAAT
ATTAATCCTCAATAGATTTGTAAAATAGTTTTCGATTAGTTTCAAACAAGGGTTGTTTTT

CCGAACCGATGGCTGGACTATCTAATGGATTTTCGCTCAACGCCACAAAACCTTGCCAAA
TCTTGTAGCAGCAATCTAGCTTTGTGATATTCGTTTGTGTTTTGTTTTGTAATAAAGGTT
CGACGTCGTTCAAATATTATGCGCTTTTGTATTTCTTTCATCACTGTCGTTAGTGTACAA
TTGACTCGACGTAAACACGTAAATAGAGCTTGGACATATTTAACATCGGGCGTGTTAGC
5 TTTATTAGGCCGATTATCGTTCGTTCGTCCTCCAACCCTCGTCGTTAGAAGTTGCTTCCGAAG
ACGATTTTGCCATAGCCACACGACGCCTATTAATTGTGTGCGGCTAACACGTCCGCGATC
AAATTTGTAGTTGAGCTTTTTTGAATTATTTCTGATTGCGGGCGTTTTTGGGCGGGTTTC
AATCTAACTGTGCCCGATTTTAATTAGACAACACGTTAGAAAAGCGATGGTGCAGGCGG
TGTAACATTTTCAGACGGCAAATCTACTAATGGCGGCGGTGGTGGAGCTGATGATAAAT
10 CTACCATCGGTGGAGGCGCAGGCGGGGCTGGCGGCGGAGGCGGAGGCGGAGGTGGT
GGCGGTGATGCAGACGGCGGTTTAGGCTCAAATGTCTCTTTAGGCAACACAGTCGGCA
CCTCAACTATTGTAAGTTTCGGGCGCCGTTTTTGGTTTGACCGGTCTGAGACGAGTG
CGATTTTTTTTCGTTTCTAATAGCTTCCAACAATTGTTGTCTGTGCTCTAAAGGTGCAGCG
GGTTGAGGTTCCGTCGGCATTGGTGGAGCGGGCGGCAATTCAGACATCGATGGTGGTG
15 GTGGTGGTGGAGGCGCTGGAATGTTAGGCACGGGAGAAGGTGGTGGCGGCGGTGCC
GCCGGTATAATTTGTTCTGGTTTAGTTTGTTCGCGCACGATTGTGGGCACCGGCGCAGG
CGCCGCTGGCTGCACAACGAAGGTGCTCTGCTTCGAGGCAGCGCTTGGGGTGGTGG
CAATTCAATATTATAATTGGAATACAAATCGTAAAAATCTGCTATAAGCATTGTAATTTTCG
CTATCGTTTACCGTGCCGATATTTAACAACCGCTCAATGTAAGCAATTGTATTGTAAGA
20 GATTGTCTCAAGCTCGGAACGCTGCGCTCGGTCGTTCCGGCTGCGGCGAGCGGTATCAG
CTCACTCAAAGGCGGTAATACGGTTATCCACAGAATCAGGGGATAACGCAGGAAAGAAC
ATGTGAGCAAAGGCCAGCAAAGGCCAGGAACCGTAAAAAGGCCGCGTTGCTGGCGT
TTTTCCATAGGCTCCGCCCCCTGACGAGCATCACAAAAATCGACGCTCAAGTCAGAGG
TGCGGAAACCCGACAGGACTATAAGATACCAGGCGTTTTCCCCTGGAAGCTCCCTCG
25 TGCGCTCTCCTGTTCCGACCCTGCCGCTTACCGGATACCTGTCCGCCTTTCTCCCTTCG
GGAAGCGTGGCGCTTTCTCAATGCTCACGCTGTAGGTATCTCAGTTCGGTGTAGGTCGT
TCGCTCCAAGCTGGGCTGTGTGCACGAACCCCCGTTTCAGCCCGACCGCTGCGCCTTA
TCCGGTAACTATCGTCTTGAGTCCAACCCGGTAAGACACGACTTATCGCCACTGGCAGC
AGCCACTGGTAACAGGATTAGCAGAGCGAGGTATGTAGGCGGTGCTACAGAGTTCTTG
30 AAGTGGTGGCCTAACTACGGCTACACTAGAAGGACAGTATTTGGTATCTGCGCTCTGCT
GAAGCCAGTTACCTTCGAAAAAGAGTTGGTAGCTCTTGATCCGGCAAACAAACCACCG
CTGGTAGCGGTGGTTTTTTTTGTTTGAAGCAGCAGATTACGCGCAGAAAAAAGGATCT
CAAGAAGATCCTTTGTTACCAATGCTTAATCAGTGAGGCACCTATCTCAGCGATCTGTCT
ATTTGTTTCATCCATAGTTGCCTGACTCCCCGTCGTGTAGATAACTACGATACGGGAGG
35 GCTTACCATCTGGCCCCAGTGCTGCAATGATACCGCGAGACCCACGCTCACCGGCTCC
AGATTTATCAGCAATAAACCAGCCAGCCGGAAGGGCCGAGCGCAGAAGTGGTCTGCA

ACTTTATCCGCCTCCATCCAGTCTATTAATTGTTGCCGGGAAGCTAGAGTAAGTAGTTCCG
CCAGTTAATAGTTTGCGCAACGTTGTTGCCATTGCTACAGGCATCGTGGTGTACAGCTC
GTCGTTTGGTATGGCTTCATTCAGCTCCGGTCCCAACGATCAAGGCGAGTTACATGAT
CCCCATGTTGTGCAAAAAGCGGTTAGCTCCTTCGGTCCCTCCGATCGTTGTCAGAAGT
5 AAGTTGGCCGCAGTGTTATCACTCATGGTTATGGCAGCACTGCATAATTCTCTTACTGTC
ATGCCATCCGTAAGATGCTTTTCTGTGACTGGTGAAGTACTCAACCAAGTCATTCTGAGAA
TAGTGTATGCGGCGACCGAGTTGCTCTTGCCCGGCGTCAATACGGGATAATACCGCGC
CACATAGCAGAACTTTAAAAGTGCTCATCATTGAAAACGTTCTTCGGGGCGAAAACCTCT
CAAGGATCTTACCGCTGTTGAGATCCAGTTCGATGTAACCCACTCGTGCACCCAACTGA
10 TCTTCAGCATCTTTTACTTTACCCAGCGTTTCTGGGTGAGCAAAAACAGGAAGGCAAAAT
GCCGCAAAAAGGGAATAAGGGCGACACGGAAATGTTGAATACTCATACTCTTCCTTTT
TCAATATTATTGAAGCATTATCAGGGTATTGTCTCATGTCCGCGCGTTTCCTGCATCTT
TTAATCAAATCCCAAGATGTGTATAAACCACCAAACCTGCCAAAAATGAAAACCTGTGAC
AAGCTCTGTCCGTTTGTGGCAACTGCAAGGGTCTCAATCCTATTTGTAATTATTGAATA
15 ATAAAACAATTATAAATGTCAAATTTGTTTTTTATTAACGATACAAACCAACGCAACAAG
AACATTTGTAGTATTATCTATAATTGAAAACGCGTAGTTATAATCGCTGAGGTAATATTTA
AAATCATTTTCAAATGATTCACAGTTAATTTGCGACAATATAATTTTATTTTACATAAACT
AGACGCCTTGTCGTCTTCTTCTTCGTATTCCTTCTCTTTTTCATTTTCTCTTCATAAAAT
TAACATAGTTATTATCGTATCCATATATGTATCTATCGTATAGAGTAAATTTTTTGTGTCA
20 TAAATATATATGTCTTTTTTAATGGGGTGTATAGTACCGCTGCGCATAGTTTTTCTGTAAT
TTACAACAGTGCTATTTTCTGGTAGTTCTTCGGAGTGTGTTGCTTTAATTATTAAATTTAT
ATAATCAATGAATTTGGGATCGTCCGTTTTGTACAATATGTTGCCGGCATAGTACGCAGC
TTCTTCTAGTTCAATTACACCATTTTTTAGCAGCACCGGATTAACATAACTTTCCAAAATG
TTGTACGAACCGTTAAACAAAAACAGTTCACCTCCCTTTTCTATACTATTGTCTGCGAGC
25 AGTTGTTTGTGTTAAAAATAACAGCCATTGTAATGAGACGCACAACTAATATCACAAA
CTGGAATGTCTATCAATATATAGTTGCTCTAGTTATTAATAGTAATCAATTACGGGGTCA
TTAGTTCATAGCCCATATATGGAGTTCCGCGTTACATAACTTACGGTAAATGGCCCGCCT
GGCTGACCGCCCAACGACCCCCGCCATTGACGTCAATAATGACGTATGTTCCCATAGT
AACGCCAATAGGGACTTTCCATTGACGTCAATGGGTGGACTATTTACGGTAAACTGCC
30 ACTTGGCAGTACATCAAGTGTATCATATGCCAAGTACGCCCCCTATTGACGTCAATGAC
GGTAAATGGCCCGCCTGGCATTATGCCCAGTACATGACCTTATGGGACTTTCCTACTTG
GCAGTACATCTACGTATTAGTCATCGCTATTACCATGCATGGTTCGAGGTGAGCCCCACG
TTCTGCTTCACTCTCCCATCTCCCCCCCCTCCCACCCCCAATTTTGTATTTATTTATTT
TTTAATTATTTTGTGCAGCGATGGGGGCGGGGGGGGGGGGGGGGGGGCGCGCGCCAGGC
35 GGGGCGGGGCGGGGCGAGGGGCGGGGCGGGGCGAGGCGGAGAGGTGCGGCGGCA
GCCAATCAGAGCGGCGCGCTCCGAAAGTTTCTTTTATGGCGAGGCGGCGGCGGCGG

CGGCCCTATAAAAAGCGAAGCGCGCGGGCGGGAGTCGCTGCGACGCTGCCTTCG
CCCCGTGCCCCGCTCCGCCGCCGCCTCGCGCCGCCCGCCCCGGCTCTGACTGACCGC
GTTACTCCACAGGTGAGCGGGCGGGACGGCCCTTCTCCTTCGGGCTGTAATTAGCGC
TTGGTTTAATGACGGCTTGTTTCTTTTCTGTGGCTGCGTGAAAGCCTTGAGGGGCTCCG
5 GGAGGGCCCTTTGTGCGGGGGGAGCGGCTCGGGGCTGTCCGCGGGGGGACGGCTGC
CTTCGGGGGGGACGGGGCAGGGCGGGGTTTCGGCTTCTGGCGTGTGACCGGCGGCTC
TAGAGCCTCTGCTAACCATGTTTCATGCCTTCTTCTTTTTCTACAGCTCCTGGGCAACGT
GCTGGTTATTGTGCTGTCTCATCATTTTGGCAAAGAATTGGATCGGACCGAAATTAATAC
GACTCACTATA

10

**SEQ ID NO 5_pTriEx-1-LAMB4(IF1)[human] – kodiert für – Humanes Laminin beta-4
ohne His-Tag**

GGAGTCGCTGCGACGCTGCCTTCGCCCGTGCCCCGCTCCGCCGCCGCCTCGCGCCG
CCCCCCCCGGCTCTGACTGACCGCGTACTCCACAGGTGAGCGGGCGGGACGGCCC
15 TTCTCCTTCGGGCTGTAATTAGCGCTTGTTTAATGACGGCTTGTTTCTTTTCTGTGGCT
GCGTGAAAGCCTTGAGGGGCTCCGGGAGGGCCCTTTGTGCGGGGGGAGCGGCTCGG
GGCTGTCCGCGGGGGGACGGCTGCCTTCGGGGGGGACGGGGCAGGGCGGGGTTTCG
GCTTCTGGCGTGTGACCGGCGGCTCTAGAGCCTCTGCTAACCATGTTTCATGCCTTCTTC
TTTTTCTACAGCTCCTGGGCAACGTGCTGGTTATTGTGCTGTCTCATCATTTTGGCAA
20 GAATTGGATCGGACCGAAATTAATACGACTCACTATAGGGGAATTGTGAGCGGATAACA
ATTCCCCGGAGTTAATCCGGGACCTTTAATTCAACCCAACACAATATATTATAGTTAAATA
AGAATTATTATCAAATCATTTGTATATTAATTAATAACTATACTGTAAATTACATTTTATTT
ACAATCAAAGGAGATATACCATGCAATTTCAACTGACCCTTTTTTTGCACCTTGGGTGGC
TCAGTTACTCAAAGCTCAAGATGACTGCAACAGGGGTGCCTGTCATCCCACCACTGGT
25 GATCTCCTGGTGGGCAGGAACACGCAGCTTATGGCTTCTTCTACCTGTGGGCTGAGCA
GAGCCCAGAAATACTGCATCCTCAGTTACCTGGAGGGGGAACAAAATGCTTCATCTGT
GACTCTAGATTTCCATATGATCCGTATGACCAACCCAACAGCCACACCATTGAGAATGTC
ATTGTAAGTTTTGAACCAGACAGAGAAAAGAAATGGTGGCAATCTGAAAATGGTCTTGAT
CATGTCAGCATCAGACTGGACTTAGAGGCATTATTTTCGGTTCAGCCACCTTATCCTGAC
30 CTTTAAGACTTTTTCGGCCTGCTGCAATGTTAGTTGAACGTTCCACAGACTATGGACACAA
CTGGAAAGTGTTCAAATATTTTGCAAAGACTGTGCCACTTCCTTTCTAACATCACATC
TGGCCAGGCCCAGGGAGTGGGAGACATTGTTTGTGACTCCAAATACTCGGATATTGAAC
CCTCAACAGGTGGAGAGGTTGTTTTAAAAGTTTTGGATCCCAGTTTTGAAATTGAAAACC
CTTATAGCCCCTACATCCAAGACCTTGTGACATTGACAAACCTGAGGATAAACTTTACCA
35 AGCTCCACACCCTTGGGGATGCTTTGCTTGGAAAGGAGGCAAATGATTCCCTTGATAAA
TACTACTATGCTCTGTACGAGATGATTGTTTCGGGGAAGCTGCTTTTGCAATGGCCATGC

TAGCGAATGTCGCCCTATGCAGAAGATGCGGGGAGATGTTTTAGCCCTCCTGGAATG
GTTACGGTCAGTGTGTGTGTCAGCACAATACAGATGGTCCGAACTGTGAGAGATGCAA
GGACTTCTTCCAGGATGCTCCTTGGAGGCCAGCTGCAGACCTCCAGGACAACGCTTGC
AGATCGTGCAGCTGTAACAGCCACTCCAGCCGCTGTCACTTTGACATGACTACGTACCT
5 GGCAAGCGGTGGCCTCAGCGGGGGCGTGTGTGAAGACTGCCAGCACAACACTGAGGG
GCAGCACTGCGACCGCTGCAGACCCCTCTTCTACAGGGACCCGCTCAAGACCATCTCA
GATCCCTACGCGTGCATTCTTGTGAATGTGACCCCGATGGGACCATATCTGGTGCCAT
TTGTGTGAGCCACTCTGATCCTGCCTTAGGGTCTGTGGCTGGCCAGTGCCTTTGTAAAG
AGAACGTGGAAGGAGCCAAATGCGACCAGTGCAAACCCAACCACTATGGACTAAGCGC
10 CACCGACCCCTGGGCTGCCAGCCCTGCGACTGTAACCCCTTGGGAGTCTGCCATTC
TTGACCTGTGATGTGGATACAGGCCAATGCTTGTGCCTGTCATATGTCACCGGAGCACA
CTGCGAAGAATGCACTGTTGGATACTGGGGCCTGGGAAATCATCTCCATGGGTGTTCTC
CCTGTGACTGTGATATTGGAGGTGCTTATTCTAACGTGTGCTCACCCAAGAATGGGCAG
TGTGAATGCCGCCACATGTCACTGGCCGTAGCTGCTCTGAACCAGCCCCTGGCTACT
15 TCTTTGCTCCTTTGAATTTCTATCTCTACGAGGCAGAGGAAGCCACAACACTCCAAGGA
CTGGCGCCTTTGGGCTCGGAGACGTTTGGCCAGAGTCCTGCTGTTACGTTGTTTTAG
GAGAGCCAGTTCCTGGGAACCCTGTTACATGGACTGGACCTGGATTTGCCAGGGTCT
CCCTGGGGCTGGCTTGAGATTTGCTGTCAACAACATTCCCTTTCTGTGGACTTCACCA
TTGCCATTCACTATGAAACCCAGTCTGCAGCTGACTGGACTGTCCAGATTGTGGTGAAC
20 CCCCCTGGAGGGAGTGAGCACTGCATACCCAAGACTCTACAGTCAAAGCCTCAGTCTTT
TGCCTTACCAGCGGCTACGAGAATCATGCTGCTTCCCACACCCATCTGTTTAGAACAG
ATGTACAATATTCCATAGATGTCTATTTTTCTCAGCCTTTGCAAGGAGAGTCCCACGCTC
ATTCACATGTCCTGGTGGACTCTCTTGGCCTTATTCCCCAAATCAATTCATTGGAGAATT
TCTGCAGCAAGCAGGACTTAGATGAGTATCAGCTTCACAACACTGTGTTGAAATTGCCTCA
25 GCAATGGGACCTCAAGTGCTCCCGGGTGCCTGTGAAAGGCTGATCATCAGCATGTCTG
CCAAGCTGCATGATGGGGCTGTGGCCTGCAAGTGTACCCCCAGGGCTCAGTCGGATC
CAGCTGCAGCCGACTTGGAGGCCAGTGCCAGTGTAACCTCTTGTGGTCCGGCGCTGC
TGTGACAGGTGCTCAACTGGAAGCTATGATTTGGGGCATCACGGCTGTCACCCATGTCA
CTGCCATCCTCAAGGATCAAAGGACACTGTATGTGACCAAGTAACAGGACAGTGGCCCT
30 GCCATGGAGAGGTGTCTGGCCGCCGCTGTGATCGCTGCCTGGCAGGCTACTTTGGATT
TCCCAGCTGCCACCCTTGGCCTTGTAAATAGGTTTGTGACTTTGTGATCCTGAGACAG
GGTCATGCTTCAATTGTGGAGGCTTTACAACACTGGCAGAACTGTGAAAGGTGTATTGAT
GGTTACTATGAAATCCTTCTTCAGGACAGCCCTGTCGTCCTTGCCTGTGTCCAGATGA
TCCCTCAAGCAATCAGTATTTTGGCCATTCTGTTATCAGAATCTGTGGAGCTCAGATGT
35 AATCTGCAATTGTCTTCAAGGTTATACGGGTAICTCAGTGTGGAGAATGCTCTACTGGTTT
CTATGGAAATCCAAGAATTTTCCAGGAGCACCTTGCCAACCATGTGCCTGCAACAACAACA

TAGATGTAACCGATCCAGAGTCCTGCAGCCGGGTAACAGGGGAGTGCCTTCGATGTTT
GCACAACACTCAGGGCGCAAACCTGCCAGCTCTGCAAACCAGGTCACTATGGATCAGCC
CTCAATCAGACCTGCAGAAGATGCTCCTGCCATGCTTCCGGCGTGAGTCCCATGGAGT
GTCCCCCTGGTGGGGGAGCTTGCCTCTGTGACCCTGTCACTGGTGCATGTCCTTGTCT
5 GCCGAATGTCACAGGCCTGGCCTGTGACCGTTGTGCTGATGGATACTGGAATCTGGTC
CCTGGCAGAGGATGTCAGTCATGTGACTGTGACCCTAGGACCTCTCAAAGTAGCCACT
GTGACCAGCTTACAGGCCAGTGTCCGTGTAATTAGGTTACGGCGGGAAACGTTGCAG
TGAGTGCCAGGAAAATTATTATGGTGATCCACCTGGGCGATGCATTCCATGTGATTGTA
ACAGGGCAGGTACCCAGAAGCCCATCTGTGATCCAGACACAGGCATGTGCCGCTGCCG
10 GGAGGGTGTGACGGCCAGAGATGTGATCGCTGTGCCCGGGACACAGCCAGGAATT
CCCTACTTGTCTTCAATGTCACTTGTGCTTTGATCAGTGGGACCACACCATTTCTTCCCT
CTCCAAAGCGGTGCAAGGGTTAATGAGACTGGCTGCTAACATGGAAGATAAAAGAGAG
ACCCTGCCTGTCTGTGAGGCAGACTTCAAAGACCTCAGAGGGAACGTGTCTGAAATAGA
AAGGATTTTGAACATCCTGTTTTCCCATCTGGGAAATTCTTAAAAGTCAAGGATTATCAT
15 GACTCTGTTAGAAGACAAATCATGCAGCTAAATGAACAACCTGAAAGCAGTGTATGAATTT
CAAGATCTGAAAGATACAATAGAAAGAGCAAAGAATGAAGCAGACCTCTTACTTGAAGA
CCTTCAGGAAGAAATTGATTTGCAATCCAGTGTCTTAATGCAAGCATTGCGGACTCCTC
AGAAAACATCAAGAAATATTATCACATATCATCATCTGCTGAAAAGAAAATTAATGAAACT
AGTTCCACCATTAATACCTCTGCAAATACAAGGAATGACTTACTTACCATCTTAGATACA
20 CTAACCTCAAAGGAAACTTGTCAATTGGAAAGATTAAGCAGATTAAGATACCAGATATC
CAAATATTGAATGAAAAGGTGTGCGGAGATCCAGGAAATGTGCCATGTGTGCCCTTGCC
CTGTGGCGGTGCTCTCTGCACGGGCCGGAAGGGGCACAGGAAGTGTAGGGGTCCCGG
CTGTACGGCTCCCTGACCCTCTCAACGAATGCCCTCCAAAAAGCCCAGGAAGCAAAT
CCATTATTCGTAATTTGGACAAACAGGTTCTGTTGGTTGAAAATCAGATCGAAAGTATAA
25 GTGAACAGGCAGAAGTCTCCAAAAACAATGCCTTACAGCTGAGGGAAAAACTGGGAAAT
ATAAGAAACCAAAGTACTCTGAAGAAGAAAACATCAATCTTTTCATCAAAAAAGTGAAA
AACTTTTTGTTAGAGGAAAACGTGCCTCCAGAAGACATCGAGAAGGTTGCGAATGGTGT
GCTTGACATTCACCTACCAATTCCATCCCAAATCTAACCGATGAACTTGTCAAATACA
GAAACATATGCAACTCTGTGAGGATTACAGGACAGATGAAAACAGGTTAAATGAAGAAG
30 CAGATGGAGCCCAAAGCTTTTGGTGAAGGCCAAAGCAGCTGAGAAAGCAGCAAATATT
CTATTAATCTTGACAAAACATTGAACCAGTTACAACAAGCTCAAATCACTCAAGGACGG
GCAAACCTACCATTACACAGCTGACTGCCAATATAACAAAAATAAAAAAGAATGTGCTG
CAGGCTGAAAATCAAACCAGGGAAATGAAGAGTGAGCTGGAGTTAGCAAAGCAGCGAT
CAGGGCTGGAGGATGGACTTTCCCTGCTGCAGACCAAGTTGCAAAGGCATCAAGACCA
35 CGCTGTCAATGCGAAAGTTCAGGCTGAATCTGCCAACACCAGGCTGGGAGTCTTGAG
AAGGAATTTGTTGAGCTGAAAAACAATATGCTATTCTCCAACGTAAGACAAGCACTACA

GGACTAACAAAGGAGACATTAGGAAAAGTTAAACAGCTAAAAGATGCGGCAGAAAAATT
GGCTGGAGATACAGAGGCCAAGATAAGAAGAATAACAGATTTAGAAAGGAAAATCCAAG
ATTTGAATCTAAGTAGACAAGCAAAGCTGATCAACTGAGAATATTGGAAGATCAAGTTG
TTGCCATTA AAAATGAAATTGTTGAACAAGAAAAAAATATGCTAGGTGCTATAGCCTCG
5 AGCACCACCATCACCATCACCATCACTAAGTGATTAACCTCAGGTGCAGGCTGCCTATC
AGAAGGTGGTGGCTGGTGTGGCCAATGCCCTGGCTCACAATACCACTGAGATCGATC
TTTTCCCTCTGCCAAAATTATGGGGACATCATGAAGCCCCTTGAGCATCTGACTTCTG
GCTAATAAAGGAAATTTATTTTCATTGCAATAGTGTGTTGGAATTTTTGTGTCTCTCACT
CGGAAGGACATATGGGAGGGCAAATCATTTAAACATCAGAATGAGTATTTGGTTTAGA
10 GTTTGGCAACATATGCCCATATGTA ACTAGCATAACCCCTTGGGGCCTCTAAACGGGTC
TTGAGGGGTTTTTTGCTGAAAGCATGCGGAGGAAATTCTCCTTGAAGTTTCCCTGGTGT
TCAAAGTAAAGGAGTTTGCACCAGACGCACCTCTGTTCACTGGTCCGGCGTATTA AAC
ACGATACATTGTTATTAGTACATTTATTAAGCGCTAGATTCTGTGCGTTGTTGATTTACAG
ACAATTGTTGTACGTATTTTAATAATTCATTA AATTTATAATCTTTAGGGTGGTATGTTAGA
15 GCGAAAATCAAATGATTTTCAGCGTCTTTATATCTGAATTTAAATATTAATCCTCAATAG
ATTTGTAAAATAGGTTTTCGATTAGTTTCAAACAAGGGTTGTTTTTCCGAACCGATGGCTG
GACTATCTAATGGATTTTCGCTCAACGCCACAAA ACTTGCCAAATCTTGTAGCAGCAATC
TAGCTTTGTGATATTCGTTTGTGTTTTGTTTTGTAATAAAGTTTCGACGTCGTTCAA AAT
ATTATGCGCTTTTGTATTTCTTTCATCACTGTCGTTAGTGTACAATTGACTCGACGTAAAC
20 ACGTTAAATAGAGCTTGGACATATTTAACATCGGGCGTGTTAGCTTTATTAGGCCGATTA
TCGTGTCGTCCCAACCCCTCGTCGTTAGAAGTTGCTTCCGAAGACGATTTTGCCATAGC
CACACGACGCTATTAATTGTGTGCGCTAACACGTCCGCGATCAAATTTGTAGTTGAGC
TTTTTGAATTATTTCTGATTGCGGGCGTTTTTTGGGCGGGTTTCAATCTAACTGTGCCCCG
ATTTTAATTCAGACAACACGTTAGAAAGCGATGGTGCAGGCGGTGGTAACATTT CAGAC
25 GGCAAATCTACTAATGGCGGCGGTGGTGGAGCTGATGATAAATCTACCATCGGTGGAG
GCGCAGGCGGGGCTGGCGGCGGAGGCGGAGGCGGAGGTGGTGGCGGTGATGCAGA
CGGCGGTTTAGGCTCAAATGTCTCTTTAGGCCAACACAGTCGGCACCTCAACTATTGTAC
TGTTTTCGGGCGCCGTTTTTTGGTTTGACCGGTCTGAGACGAGTGCGATTTTTTTTCGTTT
CTAATAGCTTCCAACAATTGTTGTCTGTGCTCTAAAGGTGCAGCGGGTTGAGGTTCCGT
30 CGGCATTGGTGGAGCGGGCGGCAATTCAGACATCGATGGTGGTGGTGGTGGTGGAGG
CGCTGGAATGTTAGGCACGGGAGAAGGTGGTGGCGGCGGTGCCGCCGGTATAATTTG
TTCTGGTTTAGTTTGTTCGCGCACGATTGTGGGCACCGGCGCAGGCGCCGCTGGCTGC
ACAACGGAAGGTCGTCTGCTTCGAGGCAGCGCTTGGGGTGGTGGCAATTC AATATTATA
ATTGGAATACAAATCGTAAAAATCTGCTATAAGCATTGTAATTTTCGCTATCGTTTACCGTG
35 CCGATATTTAACAACCGCTCAATGTAAGCAATTGTATTGTAAGAGATTGTCTCAAGCTC
GGAACGCTGCGCTCGGTCTCGGCTGCGGCGAGCGGTATCAGCTCACTCAAAGGCG

GTAATACGGTTATCCACAGAATCAGGGGATAACGCAGGAAAGAACATGTGAGCAAAGG
CCAGCAAAGGCCAGGAACCGTAAAAAGGCCGCGTTGCTGGCGTTTTTCCATAGGCTC
CGCCCCCTGACGAGCATCACAAAATCGACGCTCAAGTCAGAGGTGGCGAAACCCGA
CAGGACTATAAAGATACCAGGCGTTTCCCCCTGGAAGCTCCCTCGTGCGCTCTCCTGTT
5 CCGACCCTGCCGCTTACCGGATACCTGTCCGCCTTTCTCCCTTCGGGAAGCGTGGCGC
TTTTCTCAATGCTCACGCTGTAGGTATCTCAGTTCGGTGTAGGTCGTTTCGCTCCAAGCTG
GGCTGTGTGCACGAACCCCCGTTTCAGCCCGACCGCTGCGCCTTATCCGGTAACTATC
GTCTTGAGTCCAACCCGGTAAGACACGACTTATCGCCACTGGCAGCAGCCACTGGTAA
CAGGATTAGCAGAGCGAGGTATGTAGGCGGTGCTACAGAGTTCTTGAAGTGGTGGCCT
10 AACTACGGCTACACTAGAAGGACAGTATTTGGTATCTGCGCTCTGCTGAAGCCAGTTAC
CTTCGGAAAAAGAGTTGGTAGCTCTTGATCCGGCAAACAAACCACCGCTGGTAGCGGT
GGTTTTTTTTGTTTGAAGCAGCAGATTACGCGCAGAAAAAAGGATCTCAAGAAGATCCT
TTGTTACCAATGCTTAATCAGTGAGGCACCTATCTCAGCGATCTGTCTATTTTCGTTTCATC
CATAGTTGCCTGACTCCCCGTCGTGTAGATAACTACGATACGGGAGGGCTTACCATCTG
15 GCCCCAGTGCTGCAATGATACCGCGAGACCCACGCTCACCGGCTCCAGATTTATCAGC
AATAAACCAGCCAGCCGGAAGGGCCGAGCGCAGAAGTGGTCCTGCAACTTTATCCGCC
TCCATCCAGTCTATTAATTGTTGCCGGGAAGCTAGAGTAAGTAGTTCGCCAGTTAATAGT
TTGCGCAACGTTGTTGCCATTGCTACAGGCATCGTGGTGTACGCTCGTCGTTTGGTAT
GGCTTCATTCAGCTCCGGTTCCCAACGATCAAGGCGAGTTACATGATCCCCCATGTTGT
20 GCAAAAAAGCGGTTAGCTCCTTCGGTCCCTCCGATCGTTGTCAGAAGTAAGTTGGCCGCA
GTGTTATCACTCATGGTTATGGCAGCACTGCATAATTCTCTTACTGTCATGCCATCCGTA
AGATGCTTTTCTGTGACTGGTGTGACTCAACCAAGTCATTCTGAGAATAGTGTATGCG
GCGACCGAGTTGCTCTTGCCCGGCGTCAATACGGGATAATACCGCGCCACATAGCAGA
ACTTTAAAAGTGCTCATCATTGGAAAACGTTCTTCGGGGCGAAAACCTCAAGGATCTTA
25 CCGCTGTTGAGATCCAGTTCGATGTAACCCACTCGTGCACCCAACTGATCTTCAGCATC
TTTTACTTTTACCAGCGTTTCTGGGTGAGCAAAAACAGGAAGGCAAATGCCGCAAAAA
AGGGAATAAGGGCGACACGGAAATGTTGAATACTCATACTCTTCCTTTTTCAATATTATT
GAAGCATTATCAGGGTATTGTCTCATGTCCGCGCGTTTCCTGCATCTTTTAATCAAAT
CCCAAGATGTGTATAAACCACCAAACCTGCCAAAAAATGAAAACGTGCGACAAGCTCTGT
30 CCGTTTGCTGGCAACTGCAAGGGTCTCAATCCTATTTGTAATTATTGAATAATAAAACAA
TTATAAATGTCAAATTTGTTTTTTATTAACGATACAAACCAAACGCAACAAGAACATTTGT
AGTATTATCTATAATTGAAAACGCGTAGTTATAATCGCTGAGGTAATATTTAAAATCATTT
TCAAATGATTCACAGTTAATTTGCGACAATATAATTTTATTTTACATAAACTAGACGCCT
TGTCGTCTTCTTCTTCGTATTCTTCTTTTTTCATTTTTCTTTCATAAAAATTAACATAG
35 TTATTATCGTATCCATATATGTATCTATCGTATAGAGTAAATTTTTTGTGTCATAAATATA
TATGTCTTTTTTAATGGGGTGTATAGTACCGCTGCGCATAGTTTTTCTGTAATTTACAACA

GTGCTATTTTCTGGTAGTTCCTTCGGAGTGTGTTGCTTTAATTATTAATTTATATAATCAAT
GAATTTGGGATCGTCGGTTTTGTACAATATGTTGCCGGCATAGTACGCAGCTTCTTCTAG
TTCAATTACACCATTTTTTAGCAGCACCGGATTAACATAACTTTCCAAAATGTTGTACGAA
CCGTTAAACAAAAACAGTTCACCTCCCTTTTCTATACTATTGTCTGCGAGCAGTTGTTTG
5 TTGTTAAAAATAACAGCCATTGTAATGAGACGCACAACTAATATCACAACTGGAAATG
TCTATCAATATATAGTTGCTCTAGTTATTAATAGTAATCAATTACGGGGTCATTAGTTCAT
AGCCCATATATGGAGTTCGCGTTACATAACTTACGGTAAATGGCCCGCCTGGCTGACC
GCCCAACGACCCCGCCATTGACGTCAATAATGACGTATGTTCCCATAGTAACGCCAA
TAGGGACTTTCCATTGACGTCAATGGGTGGACTATTTACGGTAACTGCCCACTTGGCA
10 GTACATCAAGTGTATCATATGCCAAGTACGCCCCCTATTGACGTCAATGACGGTAAATG
GCCCGCCTGGCATTATGCCCAGTACATGACCTTATGGGACTTTTCTACTTGGCAGTACA
TCTACGTATTAGTCATCGCTATTACCATGCATGGTCGAGGTGAGCCCCACGTTCTGCTT
CACTCTCCCATCTCCCCCCCCCTCCCACCCCAATTTTGTATTTATTTATTTTTTAATTA
TTTTGTGCAGCGATGGGGGCGGGGGGGGGGGGGGGCGCGCGCCAGGCGGGGCGG
15 GGCGGGGCGAGGGGCGGGGCGGGGCGAGGCGGAGAGGTGCGGCGGCAGCCAATCA
GAGCGGCGCGCTCCGAAAGTTTCCTTTTATGGCGAGGCGGCGGCGGCGGCGGCCCTA
TAAAAGCGAAGCGCGCGGGCG

**SEQ ID NO 6_pTriEx-1-LAMB4(IF1)[human](dHis) – kodiert für – Humanes Laminin
20 beta-4 mit His-Tag**

GGAGTCGCTGCGACGCTGCCTTCGCCCCGTGCCCGCTCCGCCGCCGCTCGCGCCG
CCCGCCCCGGCTCTGACTGACCGCGTTACTCCCACAGGTGAGCGGGCGGGACGGCCC
TTCTCCTTCGGGCTGTAATTAGCGCTTGTTTTAATGACGGCTTGTTTCTTTTCTGTGGCT
GCGTGAAAGCCTTGAGGGGCTCCGGGAGGGCCCTTTGTGCGGGGGGAGCGGCTCGG
25 GGCTGTCCGCGGGGGGACGGCTGCCTTCGGGGGGGACGGGGCAGGGCGGGGTTTCG
GCTTCTGGCGTGTGACCGCGGCTCTAGAGCCTCTGCTAACCATGTTTCATGCCTTCTTC
TTTTTCTACAGCTCCTGGGCAACGTGCTGGTTATTGTGCTGTCTCATTTTTGGCAA
GAATTGGATCGGACCGAAATTAATACGACTCACTATAGGGGAATTGTGAGCGGATAACA
ATCCCCGGAGTTAATCCGGGACCTTTAATTCAACCAACACAATATATTATAGTTAAATA
30 AGAATTATTATCAAATCATTTGTATATTAATTAATACTATACTGTAAATTACATTTTATTT
ACAATCAAAGGAGATATACCATGCAATTTCAACTGACCCTTTTTTTGCACCTTGGGTGGC
TCAGTTACTCAAAGCTCAAGATGACTGCAACAGGGGTGCCTGTCATCCCACCACTGGT
GATCTCCTGGTGGGCAGGAACACGCAGCTTATGGCTTCTTCTACCTGTGGGCTGAGCA
GAGCCAGAAATACTGCATCCTCAGTTACCTGGAGGGGGAACAAAATGCTTCATCTGT
35 GACTCTAGATTTCCATATGATCCGTATGACCAACCAACAGCCACACCATTGAGAATGTC
ATTGTAAGTTTTGAACCAGACAGAGAAAAGAAATGGTGGCAATCTGAAAATGGTCTTGAT

CATGTCAGCATCAGACTGGACTTAGAGGCATTATTTTCGGTTCAGCCACCTTATCCTGAC
CTTTAAGACTTTTTCGGCCTGCTGCAATGTTAGTTGAACGTTCCACAGACTATGGACACAA
CTGGAAAGTGTTCAAATATTTTGCAAAGACTGTGCCACTTCCTTTCCCTAACATCACATC
TGGCCAGGCCCAGGGAGTGGGAGACATTGTTTGTGACTCCAAATACTCGGATATTGAAC
5 CCTCAACAGGTGGAGAGGTTGTTTTAAAAGTTTTGGATCCCAGTTTTGAAATTGAAAACC
CTTATAGCCCCTACATCCAAGACCTTGTGACATTGACAAACCTGAGGATAAACTTTACCA
AGCTCCACACCCTTGGGGATGCTTTGCTTGGAAGGAGGCCAAAATGATTCCCTTGATAAA
TACTACTATGCTCTGTACGAGATGATTGTTTCGGGGAAGCTGCTTTTGCAATGGCCATGC
TAGCGAATGTCGCCCTATGCAGAAGATGCGGGGAGATGTTTTAGCCCTCCTGGAATG
10 GTTCACGGTCAGTGTGTGTGTCAGCACAATACAGATGGTCCGAAGTGTGAGAGATGCAA
GGACTTCTTCCAGGATGCTCCTTGGAGGCCAGCTGCAGACCTCCAGGACAACGCTTGC
AGATCGTGCAGCTGTAACAGCCACTCCAGCCGCTGTCACTTTGACATGACTACGTACCT
GGCAAGCGGTGGCCTCAGCGGGGGCGTGTGTGAAGACTGCCAGCACAACACTGAGGG
GCAGCACTGCGACCGCTGCAGACCCCTTCTACAGGGACCCGCTCAAGACCATCTCA
15 GATCCCTACGCGTGCATTCTTGTGAATGTGACCCCGATGGGACCATATCTGGTGCCAT
TTGTGTGAGCCACTCTGATCCTGCCTTAGGGTCTGTGGCTGGCCAGTGCCTTTGTAAG
AGAACGTGGAAGGAGCCAAATGCGACCAGTGCAAACCCAACCACTATGGACTAAGCGC
CACCGACCCCTGGGCTGCCAGCCCTGCGACTGTAACCCCTTGGGAGTCTGCCATTC
TTGACCTGTGATGTGGATACAGGCCAATGCTTGTGCCTGTCATATGTCACCGGAGCACA
20 CTGCGAAGAATGCACTGTTGGATACTGGGGCCTGGGAAATCATCTCCATGGGTGTTCTC
CCTGTGACTGTGATATTGGAGGTGCTTATTCTAACGTGTGCTCACCCAAGAATGGGCAG
TGTGAATGCCGCCACATGTCACTGGCCGTAGCTGCTCTGAACCAGCCCCTGGCTACT
TCTTTGCTCCTTTGAATTTCTATCTCTACGAGGCAGAGGAAGCCACAACACTCCAAGGA
CTGGCGCCTTTGGGCTCGGAGACGTTTGGCCAGAGTCCTGCTGTTACGTTGTTTTAG
25 GAGAGCCAGTTCCTGGGAACCCTGTTACATGGACTGGACCTGGATTTGCCAGGGTCT
CCCTGGGGCTGGCTTGAGATTTGCTGTCAACAACATTCCCTTTCTGTGGACTTCACCA
TTGCCATTCACTATGAAACCCAGTCTGCAGCTGACTGGACTGTCCAGATTGTGGTGAAC
CCCCCTGGAGGGAGTGAGCACTGCATACCCAAGACTCTACAGTCAAAGCCTCAGTCTTT
TGCCTTACCAGCGGCTACGAGAATCATGCTGCTTCCACACCCATCTGTTTAGAACCAG
30 ATGTACAATATTCCATAGATGTCTATTTTTCTCAGCCTTTGCAAGGAGAGTCCCACGCTC
ATTCACATGTCCTGGTGGACTCTCTTGGCCTTATTCCCAAATCAATTCATTGGAGAATT
TCTGCAGCAAGCAGGACTTAGATGAGTATCAGCTTCACAACACTGTGTTGAAATTGCCTCA
GCAATGGGACCTCAAGTGCTCCCGGGTGCCTGTGAAAGGCTGATCATCAGCATGTCTG
CCAAGCTGCATGATGGGGCTGTGGCCTGCAAGTGTCAACCCCAAGGGCTCAGTCGGATC
35 CAGCTGCAGCCGACTTGGAGGCCAGTGCCAGTGTAACCTCTTGTGGTCCGGGCGCTGC
TGTGACAGGTGCTCAACTGGAAGCTATGATTTGGGGCATCACGGCTGTCAACCCATGTCA

CTGCCATCCTCAAGGATCAAAGGACACTGTATGTGACCAAGTAACAGGACAGTGCCCT
GCCATGGAGAGGTGTCTGGCCGCCGCTGTGATCGCTGCCTGGCAGGCTACTTTGGATT
TCCCAGCTGCCACCCTTGCCCTTGTAAATAGGTTTGCTGAACTTTGTGATCCTGAGACAG
GGTCATGCTTCAATTGTGGAGGCTTTACAACCTGGCAGAACTGTGAAAGGTGATTGAT
5 GGTTACTATGGAAATCCTTCTTCAGGACAGCCCTGTCGTCCTTGCCTGTGTCCAGATGA
TCCCTCAAGCAATCAGTATTTTGCCATTCTGTTATCAGAATCTGTGGAGCTCAGATGT
AATCTGCAATTGTCTTCAAGGTTATACGGGTA CT CAGTGTGGAGAATGCTCTACTGGTTT
CTATGGAAATCCAAGAATTT CAGGAGCACCTTGCCAACCATGTGCCTGCAACAACA
TAGATGTAACCGATCCAGAGTCCTGCAGCCGGGTAACAGGGGAGTGCCTTCGATGTTT
10 GCACAACACTCAGGGCGCAAACCTGCCAGCTCTGCAAACCAGGTC ACTATGGATCAGCC
CTCAATCAGACCTGCAGAAGATGCTCCTGCCATGCTTCCGGCGTGAGTCCCATGGAGT
GTCCCCCTGGTGGGGGAGCTTGCCTCTGTGACCCTGTCACTGGTGCATGTCCTTGTCT
GCCGAATGTCACAGGCCTGGCCTGTGACCGTTGTGCTGATGGATACTGGAATCTGGTC
CCTGGCAGAGGATGTCAGTCATGTGACTGTGACCCTAGGACCTCTCAAAGTAGCCACT
15 GTGACCAGCTTACAGGCCAGTGTCCGTGTA AATTAGGTTACGGCGGGAAACGTTGCAG
TGAGTGCCAGGAAAATTATTATGGTGATCCACCTGGGCGATGCATTCCATGTGATTGTA
ACAGGGCAGGTACCCAGAAGCCCATCTGTGATCCAGACACAGGCATGTGCCGCTGCCG
GGAGGGTGT CAGCGGCCAGAGATGTGATCGCTGTGCCCGGGACACAGCCAGGAATT
CCCTACTTGTCTTCAATGTC ACTTGTGCTTTGATCAGTGGGACCACACCATTTCTTCCCT
20 CTCCAAAGCGGTGCAAGGGTTAATGAGACTGGCTGCTAACATGGAAGATAAAAGAGAG
ACCCTGCCTGTCTGTGAGGCAGACTTCAAAGACCTCAGAGGGAACGTGTCTGAAATAGA
AAGGATTTTGAAACATCCTGTTTTCCCATCTGGGAAATTCTTAAAAGTCAAGGATTATCAT
GACTCTGTTAGAAGACAAATCATGCAGCTAAATGAACA ACTGAAAGCAGTGTATGAATTT
CAAGATCTGAAAGATACAATAGAAAGAGCAAAGAATGAAGCAGACCTCTTACTTGAAGA
25 CCTTCAGGAAGAAATTGATTTGCAATCCAGTGTCCCTTAATGCAAGCATTGCGGACTCCTC
AGAAAACATCAAGAAATATTATCACATATCATCATCTGCTGAAAAGAAAATTAATGAACT
AGTTCCACCATTAATACCTCTGCAAATACAAGGAATGACTTACTTACCATCTTAGATACA
CTAACCTCAAAGGAACTTGT CATTGGAAAGATTAAGCAGATTAAGATACCAGATATC
CAAATATTGAATGAAAAGGTGTGCGGAGATCCAGGAAATGTGCCATGTGTGCCCTTGCC
30 CTGTGGCGGTGCTCTCTGCACGGGCCGGAAGGGGCACAGGAAGTGTAGGGGTCCCGG
CTGTCACGGCTCCCTGACCCTCTCAACGAATGCCCTCCAAAAGCCCAGGAAGCAAAT
CCATTATTCGTAATTTGGACAAACAGGTTCTGTGGGTTGAAAATCAGATCGAAAGTATAA
GTGAACAGGCAGAAGTCTCCAAAACAATGCCTTACAGCTGAGGGAAAACTGGGAAAT
ATAAGAAACCAAAGTGACTCTGAAGAAGAAAACATCAATCTTTTCATCAAAAAGTGAAA
35 AACTTTTTGTTAGAGGAAAACGTGCCTCCAGAAGACATCGAGAAGGTTGCGAATGGTGT
GCTTGACATTCACCTACCAATTCATCCCAAATCTAACCGATGAACTTGTCAAATACA

GAAACATATGCAACTCTGTGAGGATTACAGGACAGATGAAAACAGGTTAAATGAAGAAG
CAGATGGAGCCCAAAGCTTTTGGTGAAGGCCAAAGCAGCTGAGAAAGCAGCAAATATT
CTATTAATCTTGACAAAACATTGAACCAGTTACAACAAGCTCAAATCACTCAAGGACGG
GCAAACCTACCATTACACAGCTGACTGCCAATATAACAAAAATAAAAAAGAATGTGCTG
5 CAGGCTGAAAATCAAACCAGGGAAATGAAGAGTGAGCTGGAGTTAGCAAAGCAGCGAT
CAGGGCTGGAGGATGGACTTTCCCTGCTGCAGACCAAGTTGCAAAGGCATCAAGACCA
CGCTGTCAATGCGAAAGTTCAGGCTGAATCTGCCAACACCAGGCTGGGAGTCTTGAG
AAGGAATTTGTTGAGCTGAAAAACAATATGCTATTCTCCAACGTAAGACAAGCACTACA
GGACTAACAAAGGAGACATTAGGAAAAGTTAAACAGCTAAAAGATGCGGCAGAAAAATT
10 GGCTGGAGATACAGAGGCCAAGATAAGAAGAATAACAGATTTAGAAAGGAAAATCCAAG
ATTTGAATCTAAGTAGACAAGCAAAGCTGATCAACTGAGAATATTGGAAGATCAAGTTG
TTGCCATTAATAAATGAAATTGTTGAACAAGAAAAAATATGCTAGGTGCTATAGCTAGC
TCGAGCACCACCATCACCATCACCATCACTAAGTGATTAACCTCAGGTGCAGGCTGCCT
ATCAGAAGGTGGTGGCTGGTGTGGCCAATGCCCTGGCTCACAAATACCACTGAGATCG
15 ATCTTTTTCCCTCTGCCAAAATTATGGGGACATCATGAAGCCCCTTGAGCATCTGACTT
CTGGCTAATAAAGGAAATTTATTTTCATTGCAATAGTGTGTTGGAATTTTTGTGTCTCTC
ACTCGGAAGGACATATGGGAGGGCAAATCATTTAAACATCAGAATGAGTATTTGGTTTA
GAGTTTGGCAACATATGCCCATATGTAAGTACATAACCCCTTGGGGCCTCTAAACGGG
TCTTGAGGGGTTTTTTGCTGAAAGCATGCGGAGGAAATTCTCCTTGAAGTTTCCCTGGT
20 GTTCAAAGTAAAGGAGTTTGCACCAGACGCACCTCTGTTCACTGGTCCGGCGTATTA
ACACGATACATTGTTATTAGTACATTTATTAAGCGCTAGATTCTGTGCGTTGTTGATTTAC
AGACAATTGTTGTACGTATTTAATAATTCATTAATTTATAATCTTTAGGGTGGTATGTTA
GAGCGAAAATCAAATGATTTTCAGCGTCTTTATATCTGAATTTAAATATTAATCCTCAAT
AGATTTGTAATAAGTTCGATTAGTTTCAAACAAGGGTTGTTTTTCCGAACCGATGGC
25 TGGACTATCTAATGGATTTTCGCTCAACGCCACAAAACCTTGCCAAATCTTGTAGCAGCAA
TCTAGCTTTGTCGATATTCGTTTGTGTTTTGTTTTGTAATAAAGGTTGACGTCGTTCAA
ATATTATGCGCTTTTGTATTTCTTTCATCACTGTCGTTAGTGTACAATTGACTCGACGTAA
ACACGTAAATAGAGCTTGGACATATTTAACATCGGGCGTGTTAGCTTTATTAGGCCGAT
TATCGTCGTCGTCCTCAACCCCTCGTCGTTAGAAGTTGCTTCCGAAGACGATTTTGCCATA
30 GCCACACGACGCCTATTAATTGTGTCGGCTAACACGTCCGCGATCAAATTTGTAGTTGA
GCTTTTTGGAATTATTTCTGATTGCGGGCGTTTTTTGGGCGGGTTTCAATCTAACTGTGCC
CGATTTTAATTCAGACAACACGTTAGAAAGCGATGGTGCAGGCGGTGGTAACATTTTCA
ACGGCAAATCTACTAATGGCGGGCGGTGGTGGAGCTGATGATAAATCTACCATCGGTGG
AGGCGCAGGCGGGGCTGGCGGCGGAGGCGGAGGCGGAGGTGGTGGCGGTGATGCA
35 GACGGCGGTTTTAGGCTCAAATGTCTCTTTAGGCAACACAGTCGGCACCTCAACTATTGT
ACTGGTTTTCGGGCGCCGTTTTTGGTTTTGACCGGTCTGAGACGAGTGCGATTTTTTTCGT

TTCTAATAGCTTCCAACAATTGTTGTCTGTCTGCTCTAAAGGTGCAGCGGGTTGAGGTTCC
GTCGGCATTGGTGGAGCGGGCGGCAATTCAGACATCGATGGTGGTGGTGGTGGTGGGA
GGCGCTGGAATGTTAGGCACGGGAGAAGGTGGTGGCGGGTGCCGCCGGTATAATT
TGTCTGGTTTAGTTTGTTCGCGCACGATTGTGGGCACCGGCGCAGGCGCCGCTGGCT
5 GCACAACGGAAGGTCGTCTGCTTCGAGGCAGCGCTTGGGGTGGTGGCAATTCAATATT
ATAATTGGAATACAAATCGTAAAAATCTGCTATAAGCATTGTAATTCGCTATCGTTTACC
GTGCCGATATTTAACAACCGCTCAATGTAAGCAATTGTATTGTAAGAGATTGTCTCAAG
CTCGGAACGCTGCGCTCGGTCTTCGGCTGCGGCGAGCGGTATCAGCTCACTCAAAG
GCGGTAATACGGTTATCCACAGAATCAGGGGATAACGCAGGAAAGAACATGTGAGCAA
10 AAGGCCAGCAAAGGCCAGGAACCGTAAAAAGGCCGCGTTGCTGGCGTTTTTCCATAG
GCTCCGCCCCCTGACGAGCATCACAAAATCGACGCTCAAGTCAGAGGTGGCGAAAC
CCGACAGGACTATAAAGATAACCAGGCGTTTTCCCCCTGGAAGCTCCCTCGTGCGCTCTC
CTGTTCCGACCCTGCCGCTTACCGGATACCTGTCCGCTTTCTCCCTTCGGGAAGCGT
GGCGCTTTCTCAATGCTCACGCTGTAGGTATCTCAGTTCGGTGTAGGTCGTTTCGCTCCA
15 AGCTGGGCTGTGTGCACGAACCCCCGTTACGCCCGACCGCTGCGCCTTATCCGGTAA
CTATCGTCTTGAGTCCAACCCGGTAAGACACGACTTATCGCCACTGGCAGCAGCCACTG
GTAACAGGATTAGCAGAGCGAGGTATGTAGGCGGTGCTACAGAGTTCTTGAAGTGGTG
GCCTAACTACGGCTACACTAGAAGGACAGTATTTGGTATCTGCGCTCTGCTGAAGCCAG
TTACCTTCGGAAAAAGAGTTGGTAGCTCTTGATCCGGCAAACAAACCACCGCTGGTAGC
20 GGTGGTTTTTTTTGTTTGC AAGCAGCAGATTACGCGCAGAAAAAAGGATCTCAAGAAGA
TCCTTTGTTACCAATGCTTAATCAGTGAGGCACCTATCTCAGCGATCTGTCTATTTTCGTT
CATCCATAGTTGCCTGACTCCCCGTCGTGTAGATAACTACGATACGGGAGGGCTTACCA
TCTGGCCCCAGTGCTGCAATGATACCGCGAGACCCACGCTCACCGGCTCCAGATTTAT
CAGCAATAAACCAGCCAGCCGGAAGGGCCGAGCGCAGAAGTGGTCCTGCAACTTTATC
25 CGCCTCCATCCAGTCTATTAATTGTTGCCGGGAAGCTAGAGTAAGTAGTTCGCCAGTTA
ATAGTTTTCGCAACGTTGTTGCCATTGCTACAGGCATCGTGGTGTACGCTCGTCGTTT
GGTATGGCTTCATTCAGCTCCGGTCCCAACGATCAAGGCGAGTTACATGATCCCCAT
GTTGTGCAAAAAAGCGGTTAGCTCCTTCGGTCCCTCCGATCGTTGTCAGAAGTAAGTTGG
CCGCAGTGTTATCACTCATGGTTATGGCAGCACTGCATAATTCTCTTACTGTCATGCCAT
30 CCGTAAGATGCTTTTCTGTGACTGGTGTGACTCAACCAAGTCATTCTGAGAATAGTGTA
TGCGGCGACCGAGTTGCTCTTGCCCGGCGTCAATACGGGATAATACCGCGCCACATAG
CAGAACTTTAAAAGTGCTCATCATTGAAAACGTTCTTCGGGGCGAAAACCTCAAGGA
TCTTACCGCTGTTGAGATCCAGTTCGATGTAACCCACTCGTGCACCCAACTGATCTTCA
GCATCTTTTACTTTACCAGCGTTTCTGGGTGAGCAAAAACAGGAAGGCAAATGCCGC
35 AAAAAAGGGAATAAGGGCGACACGGAAATGTTGAATACTCATACTCTTCCTTTTTCAATA
TTATTGAAGCATTATCAGGGTTATTGTCTCATGTCCGCGCGTTTTCTGCATCTTTAATC

AAATCCCAAGATGTGTATAAACCACCAAACCTGCCAAAAAATGAAAACCTGTGACAAGCTC
TGTCGGTTTGCTGGCAACTGCAAGGGTCTCAATCCTATTTGTAATTATTGAATAATAAAA
CAATTATAAATGTCAAATTTGTTTTTTATTAACGATACAAACCAAACGCAACAAGAACATT
TGTAGTATTATCTATAATTGAAAACGCGTAGTTATAATCGCTGAGGTAATATTTAAAATCA
5 TTTTCAAATGATTCACAGTTAATTTGCGACAATATAATTTTATTTTCACATAAACTAGACGC
CTTGTCGTCTTCTTCTTCGTATTCCTTCTCTTTTTTCATTTTTCTCTTCATAAAAATTAACAT
AGTTATTATCGTATCCATATATGTATCTATCGTATAGAGTAAATTTTTGTTGTCATAAATA
TATATGTCTTTTTTAATGGGGTGTATAGTACCGCTGCGCATAGTTTTCTGTAATTTACAA
CAGTGCTATTTTCTGGTAGTTCTTCGGAGTGTGTTGCTTTAATTATTAATTTATATAATC
10 AATGAATTTGGGATCGTCGGTTTTGTACAATATGTTGCCGGCATAGTACGCAGCTTCTTC
TAGTTCAATTACACCATTTTTTAGCAGCACCGGATTAACATAACTTTCCAAAATGTTGTAC
GAACCGTTAAACAAAAACAGTTCACCTCCCTTTTCTATACTATTGTCTGCGAGCAGTTGT
TTGTTGTTAAAAATAACAGCCATTGTAATGAGACGCACAACTAATATCACAACTGGAA
ATGTCTATCAATATATAGTTGCTCTAGTTATTAATAGTAATCAATTACGGGGTCATTAGTT
15 CATAGCCCATATATGGAGTTCGCGTTACATAACTTACGGTAAATGGCCCGCCTGGCTG
ACCGCCCAACGACCCCGCCATTGACGTCAATAATGACGTATGTTCCCATAGTAACGC
CAATAGGGACTTTCCATTGACGTCAATGGGTGGACTATTTACGGTAAACTGCCCACTTG
GCAGTACATCAAGTGTATCATATGCCAAGTACGCCCCCTATTGACGTCAATGACGGTAA
ATGGCCCGCCTGGCATTATGCCCAGTACATGACCTTATGGGACTTTCTACTTGGCAGT
20 ACATCTACGTATTAGTCATCGCTATTACCATGCATGGTCGAGGTGAGCCCCACGTTCTG
CTTCACTCTCCCCATCTCCCCCCCCTCCCCACCCCAATTTTGTATTTATTTATTTTTTAA
TTATTTTGTGCAGCGATGGGGGCGGGGGGGGGGGGGGGGGCGCGCGCCAGGCGGGGGC
GGGGCGGGGCGAGGGGCGGGGCGGGGCGAGGCGGAGAGGTGCGGCGGCAGCCAAT
CAGAGCGGCGCGCTCCGAAAGTTTCCTTTTATGGCGAGGCGGCGGCGGCGGCGGCC
25 TATAAAAAGCGAAGCGCGCGGGCGG

SEQ ID NO7:>LAMB4-His – Humanes Laminin beta-4 mit His-Tag

MQFQLTLFLHLGWLSYSKAQDDCNRGACHPTTGDLLVGRNTQLMASSTCGLSRAQKYCIL
SYLEGEQKCFICDSRFPYDPYDQPNSTIENVIVSFEPDREKKWWQSENGLDHVSIRLDLEA
30 LFRFSLILTFKTRPAAMLVERSTDYGHNWKVKYFAKDCATSFPNITSGQAQGVGDIVCD
SKYSDIEPSTGGEVVLKVLDPSEIENPYSPIYQDLVTLNLRINF TKLHTLGDALLGRRQNDS
LDKYYYALYEMIVRGSCFCNGHASECRPMQKMRGDVFSPPGMVHGQCVCQHNTDGPNCE
RCKDFFQDAPWRPAADLQDNACRSCSCNSHSSRCHFDMTTYLASGGLSGGVCEDCQHNT
EGQHCDRCRPLFYRDPLKTISDPYACIPCECDPDGTISGGICVSHSDPALGSVAGQCLCKEN
35 VEGAKCDQCKPNHYGLSATDPLGCQPCDCNPLGSLPFLTCDVDTGQCLCLSYVTGAHCEE
CTVGYWGLGNHLHGCSPCDCDIDGGAYSNVCSPKNGQCECRPHVTGRSCSEPAPGYFFAP

LNFYLYEAAEATTLQGLAPLGSETFGQSPAVHVVLGEPVPGNPVTWTGPGFARVLPGAGLR
FAVNNIPFPVDFTIAIHYETQSAADWTVQIVVNPPGGSEHCIPKTLQSKPQSFALPAATRIMLL
PTPICLEPDVQYSIDVYFSQPLQGESHASHVLDVSLGLIPQINSLENFCSKQDLDEYQLHNC
VEIASAMGPQVLPGACERLIISMSAKLHDGAVACKCHPQGSVGSSECSRLGGQCQCKPLVV
5 GRCCDR CSTGSYDLGHHGCHPCHHPQGSKDTVCDQVTGQCPCHGEVSGRRCDRCLAG
YFGFPSCHPCPCNRFAELCDPETGSCFNCGGFTTGRNCERCIDGYGNPSSGQPCRPLC
PDDPSSNQYFAHSCYQNLWSSDVICNCLQGYTGTQCCECSTGFYGNPRISGAPCQPCACN
NNIDVTDPESCSRVTGECLRCLHNTQGANCQLCKPGHYGSALNQTERRCSCHASGVSPME
CPPGGGACLCDPVTGACPCLPNVTGLACDRCADGYWNLVPGRGCQSCDCDPRTSQSSH
10 CDQLTGQCPCCKLGYGGKRCSECQENYYGDPGRCIPCDCNRAGTQKPIDPDTGMCRCR
EGVSGQRCDRCARGHSQEFPTCLQCHLCFDQWDHTISSLSKAVQGLMRLAANMEDKRET
LPVCEADFKDLRGNVSEIERILKHPVFPSPGKFLVKDYHDSVRRQIMQLNEQLKAVYEFQDL
KDTIERAKNEADLLEDLQEEIDLQSSVLNASIADSSENIKKYHISSSAEKKINETSSTINTSA
NTRNDLLTILDTLTSGNLSLERLKQIKIPDIQILNEKVCGDPGNVPCVPLPCGGALCTGRKG
15 HRKCRGPGCHGSLTLSTNALQKAQEAksiRNLDKQVRGLKNQIESISEQAEVSKNNALQLR
EKLGNIRNQSDSEENINLFIKKVKNFLEENVPPEDIEKVANGVLDIHLPIPSQNLDELVKIQ
KHMQLCEDYRTDENRLNEEADGAQKLLVKAKAAEKAANILLNLDKTLNQLQQAQITQGRAN
STITQLTANITKIKKNVLQAENQTREMKSELELAKQRSGLEDGLSLLQTKLQRHQDHAVNAK
VQAESAQHQAGSLEKEFVELKKQYAILQRKTSTTGLTKETLGKVKQLKDAAEKLADTEAKI
20 RRITDLERKIQDLNLSRQAKADQLRILEDQVVAIKNEIVEQEKKYARCYSLEHHHHHHHH

SEQ ID NO 8: Autoantikörper-Epitop 1

EFQDL

25 **SEQ ID NO 9: Autoantikörper-Epitop 2**

ADLLEDLQE

SEQ ID NO 10: Autoantikörper-Epitop 3

ADLLEDLQEEIDLQS

30

SEQ ID NO 11: Autoantikörper-Epitop 4

DLLTILDTLTSK

SEQ ID NO 12: Autoantikörper-Epitop 5

35 QIKIPDIQILNEK

SEQ ID NO 13: Autoantikörper-Epitop 6

VRGLKNQIESISE

SEQ ID NO 14: Autoantikörper-Epitop 7

5 LLEENVPPEDI

SEQ ID NO 15: Teilfragment 1

MQDDCNRGACHPTTGDLLVGRNTQLMASSTCGLSRAQKYCILSYLEGEQKCFICDSRFPYD
PYDQPNSTIENVIVSFEPDREKK**WW**QSENGLDHVSIRLDLEALFRFSLILTFKTRPAAML
10 VERSTDYGHN**W**KVKFYFAKDCATSFPNITSGQAQGVGDIVCDSKYSDIEPSTGGEVVLKVL
DPSFEIENPYSPIQDLVTLTNLRINF TKLHTLGDALLGRRQNDSLDKYYYALYEMIVRGSCF
CNGHASECRPMQKMRGDVFSPPGMVHGQCVCQHNTDGPNCERCKDFFQDAP**W**

SEQ ID NO 16: Teilfragment 2

15 MPNCERCKDFFQDAP**W**RPAA DLQDNACRSCSCNSHSSRCHFDMTTYLASGGLSGGVCE
CQHNTGQHCDCRPLFYRDPLKTISDPYACIPCECDPDGTISGGICVSHSDPALG SVAGQ
CLCKENVEGAKCDQCKPNHYGLSATDPLGCQPCDCNPLGSLPFLTCDVDTGQCLCLSYVT
GAHCEECTVGY**W**GLGNHLHGCSPDCDCDIGGAYS NVCSPKNGQCECRPHVTGRSCSEPAP
GYFFAPLNFYLYEAE EATTLQGLAPLGSETFGQSPAVHVVLGEPVPGNPVT**W**TGPGFARVL
20 **W**

SEQ ID NO 17: Teilfragment 3

MGNPVT**W**TGPGFARVLPGAGLRFVNNIPFPVDFTIAIH YETQSAAD**W**TVQIVNPPGGSE
HCIPKTLQSKPQS FALPAATRIMLLPTPICLEPDVQYSIDVYFSQPLQGESHASHVLVDSL
25 LIPQINSLENFC SKQDLDEYQLHNCVEIASAMGPQVLPGACERLIISMSAKLHDGAVACKCHP
QGSVGS SCSRLGGQCQCKPLVVGRCDCRSTGSYDLGHHGCHPCHPQGSKDTVCDQ
VTGQCPCHGEVSGRRCDRCLAGYFGFSPCHPCPCNRFAELCDPETGSCFNCGGFTTGRN
CERCIDGYYGN**WGW**

SEQ ID NO 18: Teilfragment 4

30 MTGRNCERCIDGYYGNPSSGQPCRPLCPDDPSSNQYFAHSCYQNL**W**SSDVICNCLQGY
TGTQCGECSTGFYGNPRISGAPCQPCACNNNIDVTDPESCSRVTGECLRCLHNTQGANCQ
LCKPGHYGSALNQTCRRCSCHASGVSPMECPPGGGACLCDPVTGACPCLPNVTGLACDR
CADGY**W**NLVPGRGCQSCDCDPRTSQSSHCDQLTGQCPCKLGYGGKRCSECQENYYGDP
35 PGRICIPCDCNRAGTQKPICDPDTGMCRCREGVSGQRCDRCARGHSQE**WGW**

SEQ ID NO 19: Teilfragment 5

MSGQRCDRCARGHSQEFPTCLQCHLCFDQWDHTISSLSKAVQGLMRLAANMEDKRETLP
VCEADFKDLRGNVSEIERILKHPVFPSPGKFLKVKDYHDSVRRQIMQLNEQLKAVYEFQDLKD
TIERAKNEADLLLEDLQEEIDLQSSVLNASIADSSENIKKYYHISSSAEKKINETSSTINTSANT
5 RNDLLTILDTLTSKGNLSLERLKQIKIPDIQILNEKVCGDPGNVPCVPLPCGGALCTGRKGRH
KCRGPGCHGSLTLSTNALQKAQEAksiIRNLDKQVRGLKNQIESISEQAEVSKNNALQLREK
LGNIWGWGW

SEQ ID NO 20: Teilfragment 6

10 MSKNNALQLREKLGNI RNQSDSEENINLFIKKVKNFLEENVPPEDIEKVANGVLDIHLPIPS
QNLTDLVKIQKHMQLCEDYRTDENRLNEEADGAQKLLVKAKAAEKAANILLNLDKTLNQLQ
QAQITQGRANSTITQLTANITKIKKNVLQAENQTREMKSELELAKQRSGLEDGLSLLQTKLQR
HQDHAVNAKVQAESAQHQAQSLEKEFVELKKQYAILQRKTSTTGLTKETLGKVKQLKDAE
KLAGDTEAKIRRIDLERKIQDLNLSRQAKADQLRILEDQVVAIKNEIVEQEKKYARCYSWGW
15 GWGW

**SEQ ID NO 21: Teilfragment 1, mit vier Tryptophanen und C-terminalem His-Tag
(AMB4-TF1-4W-His)**

MQDDCNRGACHPTTGDLLVGRNTQLMASSTCGLSRAQKYCILSYLEGEQKCFICDSRFPYD
20 PYDQPNSTIENVIVSFEPDREKKWWQSENGLDHVSIRLDLEALFRFSLILTFKTFRPAAML
VERSTDYGHNWKVKYFAKDCATSFPNITSGQAQGVGDIVCDSKYSDIEPSTGGEVVLKVL
DPSFEIENPYSPIQDLVTLTLNLRINF TKLHTLGDALLGRRQNDSLDKYYYALYEMIVRGSCF
CNGHASECRPMQKMRGDVFSPPGMVHGQCVCQHNTDGPNCERCKDFFQDAPWLEHHH
HHH

25

**SEQ ID NO 22: Teilfragment 2, mit vier Tryptophanen und C-terminalem His-Tag
(LAMB4-TF2-4W-His)**

30 MPNCERCKDFFQDAPWRPAADLQDNACRSCSCNSHSSRCHFDMTTYLASGGLSGGVCD
CQHNTGQHCDCRCRPLFYRDPLKTISDPYACIPCECDPDGTISGGICVSHSDPALGTVAGQ
CLCKENVEGAKCDQCKPNHYGLSATDPLGCQPCDCNPLGSLPFLTCDVDTGQCLCLSYVT
GAHCEECTVGYWGLGNHLHGCSPCDCDIGGAYSNVCSKNGQCECRPHVTGRSCSEPA
GYFFAPLNFYLYEAEATTQLGLAPLGSETFGQSPAVHVVLGEPVGNPVTWTGPGFARVL
35 WLEHHHHHH

**SEQ ID NO 23: Teilfragment 3, mit vier Tryptophanen und C-terminalem His-Tag
(LAMB4-TF3-4W-His)**

5 MGNPVT**W**TGPGFARVLPGAGLRFVNNIPFPVDFTHAIHYETQSAAD**W**TVQIVVNPPGGSE
HCIPKTLQSKPQSFALPAATRIMLLPTICLEPDVQYSIDVYFSQPLQGESHASHVLDVSLG
LIPQINSLENFCSKQDLDEYQLHNCVEIASAMGPQVLPGACERLIISMSAKLHDGAVACKCHP
QGSVGSSECSRLGGQCQCKPLVVGRCDCRCSTGSYDLGHHGCHPCHHPQGSKDTVCDQ
VTGQCPCHGEVSGRRCRCLAGYFGFPSCHPCCNRFAELCDPETGSCFNCGGFTTGRN
CERCIDGYYG**W****W**LEHHHHHH

10 **SEQ ID NO 24: Teilfragment 4, mit vier Tryptophanen und C-terminalem His-Tag
(LAMB4-TF4-4W-His)**

MTGRNCERCIDGYGNPSSGQPCRPLCPDDPSSNQYFAHSCYQNL**W**SSDVICNCLQGY
TGTQCGECSTGFYGNPRISGAPCQPCACNNNIDVTDPESCSRVTGECLRCLHNTQGANCQ
LCKPGHYGSALNQTCRRCCHASGVSPMECPPGGGACLCDPVTGACPLPNTGLACDR
15 CADGY**W**NLVPGRGCQSCDCPRTSQSSHCDQLTGQCPCKLGYGGKRCSECQENYYGDP
PGRCIPCDCNRAGTQKPICPDTGMCRCREGVSGQRCDRCARGHSQE**W****W**LEHHHHHH

**SEQ ID NO 25: Teilfragment 5, mit vier Tryptophanen und C-terminalem His-Tag
(LAMB4-TF5-4W-His)**

20 MSGQRCDRCARGHSQEFPTCLQCHLCFDQ**W**DHTISSLSKAVQGLMRLAANMEDKRETL
VCEADFKDLRGNVSEIERILKHPVFPSPGKFLVKDYHDSVRRQIMQLNEQLKAVYEFQDLKD
TIERAKNEADLLLEDLQEEIDLQSSVLNASIADSSENIKKYYHISSSAEKKINETSSTINTSANT
RNDLLTILDTLTSKGNLSLERLKQIKIPDIQILNEKVCGDPGNVPCVPLPCGGALCTGRKGRH
KCRGPGCHGSLTLSTNALQKAQEAksiIRNLDKQVRGLKNQIESISEQAEVSKNNALQLREK
25 LGNI**W****W****W**LEHHHHHH

**SEQ ID NO 26: Teilfragment 6, mit vier Tryptophanen und C-terminalem His-Tag
(LAMB4-TF6-4W-His)**

30 MSKNNALQLREKLGNIQNQSDSEENINLFIKKVKNFLLEENVPPEDIEKVANGVLDIHLPIPS
QNLTDELVKIQKHMQLCEDYRTDENRLNEEADGAQKLLVKAKAAEKAANILLNLDKTLNQLQ
QAQITQGRANSTITQLTANITKIKKNVLQAENQTREMKSELELAKQRSGLEDGLSLLQTKLQR
HQDHAVNAKVQAESAQHQAQSLEKEFVELKKQYAILQRKTSTTGLTKETLGKVKQLKDAE
KLAGDTEAKIRRIDLERKIQDLNLSRQAKADQLRILEDQVVAIKNEIVEQEKKYARCYS**W****W**
G**W****W**LEHHHHHH

35

SEQ ID NO 27: Laminin beta-4

MQFQLTLFLHLGWLSYSKAQDDCNRGACHPTTGDLLVGRNTQLMASSTCGLSRAQKYCIL
SYLEGEQKCFICDSRFPYDPYDQPNSTIENVIVSFEPDREKKWWQSENGLDHVSIRLDLEA
LFRFSLILTFKTRPAAMLVERSTDYGHNVKVFYFAKDCATSPFNITSGQAQGVGDIVCD
SKYSDIEPSTGGEVVLKVLDPSEFIENPYSPIQDLVTLTNLRINF TKLHTLGDALLGRRQNDS
5 LDKYYYALYEMIVRGSCFCNGHASECRPMQKMRGDVFSPPGMVHGQCVCQHNTDGPNCE
RCKDFFQDAPWRPAADLQDNACRSCSCNSHSSRCHFDMTTYLASGGLSGGVCEDCQHNT
EGQHCDRCRPLFYRDPLKTISDPYACIPCECDPDGTISGGICVSHSDPALGSVAGQCCKEN
VEGAKCDQCKPNHYGLSATDPLGCQPCDCNPLGSLPFLTCDVDTGQCLCLS YVTGAHCEE
CTVGYWGLGNHLHGCSPCDCDIGGAYSNVCSPKNGQCECRPHVTGRSCSEPAPGYFFAP
10 LNFYLYEAEAEATTLQGLAPLGSETFGQSPAVHVVLGEPVPGNPVTWTGPGFARVLPGAGLR
FAVNNIPFPVDFTIAIH YETQSAADWTVQIVVNPPGGSEHCIPKTLQSKPQSFALPAATRIMLL
PTPICLEPDVQYSIDVYFSQPLQGESHASHVLDLGLIPQINSLENFCSKQDLDEYQLHNC
VEIASAMGPQVLPGACERLIISMSAKLHDGAVACKCHPQGSVGS SCSRLGGQCQCKPLVV
GRCCDRCSTGSYDLGHHGCHPCHHPQGSKDTVCDQVTGQCPCHGEVSGRRCDRCLAG
15 YFGFSPSCHPCPCNRFAELCDPETGSCFNCGGFTTGRNCERCIDGYGNPSSGQPCRPLC
PDDPSSNQYFAHSCYQNLWSSDVICNCLQGYTGTQC GECSTGFYGNPRISGAPCQPCACN
NNIDVTDPESCSRVTGECLRCLHNTQGANCQLCKPGHYGSALNQT CRRCSCHASGVSPME
CPPGGGACLCDPVTGACPCLPNVTGLACDRCADGYWNLVPGRGCQSCDCDPRTSQQSH
CDQLTGQCCKLGYGGKRCSECQENYYGDPGRCIPDCNRAGTQK PICDPDTGMCRCR
20 EGVSGQRCDRCARGHSQEFP TCLQCHLCFDQWDHTISSLSKAVQGLMRLAANMEDKRET
LPVCEADFKDLRGNVSEIERILKHPVFP SGKFLVKDYHDSVRRQIMQLNEQLKAVYEFQDL
KDTIERAKNEADLLEDLQEEIDLQSSVLNASIADSS ENIKKYHISSSAEKKINETSSTINTSA
NTRNDLLTILD TLTSKGNLSLERLKQIKIPDIQILNEKVC GDPGNVPCVPLPCGGALCTGRKG
HRKCRGPGCHGSLTLSTNALQKAQEA KSIIRNLDKQVRGLKNQIESISEQA EVSKNNALQLR
25 EKLGNIRNQSDSEENINLFIKKVKNFLLEENVPPEDIEKVANGVLDIHLPIPSQNL TDELVKIQ
KHMQLCEDYRTDENRLNEEADGAQKLLVKAKAAEKAANILLNLDKTLNQLQQAQITQGRAN
STITQLTANITKIKKNVLQAENQTREMKSELELAKQRS GLEDGLSLLQTKLQRHQDHAVNAK
VQAESAQHQAGSLEKEFVELKKQYAILQRKTSTTGLTKETLGKVKQLKDAAEKL AGDTEAKI
RRITDLERKIQDLNLSRQAKADQLRILEDQVVAIKNEIVEQEKKYARCYS

30

SEQ ID NO 28: SEQ ID NO 8 aus EP3260864

MDCTFKPDFEMTVKECQHSGELSSRNTGHLHPTPRSP LLRWTQEPQPLEEKWQHRVVEQI
PKEVQFQPPGAPLEKEKSQQCYSEYFSQTSTELQITFDETNPITRLSEIEKIRDQALNNSRPP
VRYQDNACEMELVKVLTPL EIAKNKQYDMHTEVTTLKQEKNPVPSAE EWMLEGCRASGGL
35 KKGDFLKKGLEPETFQNF DGDHACSVRDDEFKQGLRHTVTARQLVEAKLLDMRTIEQLRL
GLKTVEEVQKTLNKFLT KATSIAGLYLESTKEKISFASAAERIIIDKMVALAFLEAQAATGFIIDPI

SGQTYSVEDAVLKGVDPEFRIRLLEAEKAAVGYSYSSKTLVSVFQAMENRMLDRQKKGKHL
EAQIASGGVIDPVRGIRVPPEIALQQGLLNAILQFLHEPSSNTRVFPNPNKQALYYSELLR
MCVFDVESQCFLFPFGERNISNLNVKKTTHRISVVDTKTGSELTVYEAFQRNLIKSIYLELSG
QQYQWKEAMFFESYGHSSHMLTDTKTGLHFNINEAIEQGTIDKALVKKYQEGLITLTELADSL
5 LSRLVPKKDLHSPVAGYWLTASGERISVLKASRRNLVDRITALRCLEAQVSTGGIIDPLTGKK
YRVAEALHRGLVDEGFAQQLRQCELVITGIGHYPITNKMMSVVEAVNANIINKEMGIRCLEFQY
LTGGLIEPQVHSRLSIEEALQVGIIDVLIATKLDQKSYVRNIICPQTKRKLTYKEALEKADDFD
HTGLKLLEVSEPLMTGISSLYYSSLLE

10 **SEQ ID NO 29: Gliadin-Peptid**
LGQQQPFPPQQPYQPQPFPSQQPY

SEQ ID NO 30: Gliadin-Peptid
QLQPFQPELPYPQPQS

15 **SEQ ID NO 31: Gliadin-Peptid**
QQLPQPEQPQQSFPEQERPF

Im Folgenden wird die Erfindung unter Bezugnahme auf die Figuren anhand von
20 Ausführungsbeispielen erläutert. Die beschriebenen Ausführungsformen sind in jeder
Hinsicht lediglich beispielhaft und nicht als einschränkend zu verstehen, und verschiedene
Kombinationen der angeführten Merkmale sind vom Umfang der Erfindung umfasst.

Fig. 1 zeigt eine Immunpräzipitation mit Anti-p200-Pemphigoid Patienten IgG bzw. Serum
25 ohne LAMC1-Reaktivität und Extrakt humaner Dermis. A: Westernblot-Analyse: Nachweis
der immunpräzipitierten Proteine durch Inkubation mit einem Anti-p200-Pemphigoid Serum
als Erstantikörper (Verdünnung 1:50). Reihe 1: Anti-p200 IgG (aufgereinigt) ohne LAMC1-
cterm Reaktivität, Reihe 2: Anti-p200-Pemphigoid Serum ohne LAMC1-cterm Reaktivität,
Reihe 3: normales humanes IgG (aufgereinigt), Reihe 4: normales humanes Serum, Reihe 5:
30 Gammbind G Sepharose alleine B: Silver blue (Coomassie)-Färbung eines Gels mit den
gleichen Proben wie in A. Die Banden 1, 2 und 3 wurden ausgeschnitten und einer LC-
MS/MS-Analyse unterzogen. Laminin beta-4 wurde als mögliches Autoantigen identifiziert
(Banden 1 und 2).

35 **Fig. 2** zeigt den Nachweis von Laminin beta-4 in der Haut. A, B: Indirekte Immunfluoreszenz
Mikroskopie: Färbung von Laminin beta-4 auf der dermalen Seite des artifiziiellen Spaltes in

salzgespaltener humaner Haut mit Hilfe eines kommerziellen polyklonalen Antikörpers (Cloud-Clone; PAC079Hu01). B. Negativkontrolle. C: Test des Laminin beta-4 Antikörpers in Harnstoffextrakten humaner Dermis mittels Westernblot-Analyse. Streifen 1 und 2: Anti-200 Pemphigoid Seren, Streifen 3: Laminin gamma 1 Antikörper, Streifen 4: Laminin beta-4 Antikörper, Streifen 5 und 6: normale humane Seren. D: Immunpräzipitation mit Laminin beta-4 Antikörper und Extrakt humaner Dermis gefolgt von Westernblot-Analyse (Anfärbung mit einem Pool aus Anti-p200 Pemphigoid Patienten IgG ohne Laminin gamma 1 Reaktivität). Reihe 1 und 2: Anti-Laminin beta-4 Antikörper (5 bzw 10 µg), Reihe 3: Anti-NC16A IgG (Kontroll-IgG, 10 µg), Reihe 4: normales Kaninchen IgG (10 µg), Reihe 5: Gammabind G Sepharose alleine

Fig. 3 zeigt eine repräsentative Westernblot-Analyse mit Laminin beta-4 exprimierenden HEK293 Zellen und Anti-p200-Pemphigoid Seren (n=29). HEK293 Zellen wurden mit LAMB4-pTriEx1 transfiziert (jetPRIME; Polyplus) und nach 48h in RIPA Puffer lysiert. Das Proteinextrakt wurde mittels SDS PAGE aufgetrennt, die Proteine auf eine Nitrozellulosemembran übertragen, die Membran geblockt und mit dem Laminin beta-4 Antikörper (kommerzieller polyklonaler Antikörper von Cloud-Clone; 1:2000), den Anti-p200 Pemphigoid Seren (1:50) und den normalen humanen Seren (NHS, 1:50) gesunder Blutspender über Nacht inkubiert. Als Zweitantikörper wurde ein Anti-human IgG4 HRP Konjugat (1:2000) verwendet. Der Blot wurde für 1 min mit DAB entwickelt. Alle hier gezeigten Anti-p200 Pemphigoid Seren reagierten mit Laminin beta-4, wobei die Kontrollen keine Reaktion aufwiesen.

Fig. 4 zeigt die Ergebnisse der Präadsorptionsstudie. Anti-p200-Pemphigoidseren wurden mit dem HEK293- Laminin beta-4 Extrakt präadsorbiert (ü. Nacht) und dann auf ihre Reaktivität im Westernblot getestet. A: Links: drei Anti-p200-Pemphigoidseren wurden mit HEK293- Laminin beta-4 Extrakt über Nacht präadsorbiert und wiesen im anschließenden Westernblot mit Laminin beta-4 im Vergleich zu den nicht-präadsorbierten Seren (1, 3, 5) kein Signal mehr auf (Streifen 2, 4, 6). Streifen 7, normales humanes Serum; Streifen 8, präadsorbiertes normales humanes Serum. Rechts: die gleichen Proben wurden auch mit Nitrozellulose-Streifen von dermalem Extrakt inkubiert und wiesen das gleiche Ergebnis auf. Nur Serum Nr. 2 reagierte trotz Präadsorption im Westernblot mit dermalem Extrakt. B: Im Westernblot mit rekombinantem hLAMC1-cterm konnte gezeigt werden, dass Serum Nr. 2 auch mit Laminin gamma-1 reagierte. C: Erneute Präadsorption des Serums Nr. 2 mit hLAMC1-cterm und dem Zellextrakt mit Laminin beta-4 Expression. Die Autoantikörperreaktivität mit beiden Extrakten konnte aufgehoben werden. Streifen 1: Anti-

p200-Pemphigoid Serum (Nr. 2), Streifen 2: präadsorbiertes Anti-p200-Pemphigoid Serum (Nr. 2), Streifen 3: normales humanes Serum, Streifen 4: präadsorbiertes normales humanes Serum.

5 **Fig. 5** zeigt beispielhafte Primärdaten aus dem genauen Epitop-Mapping. Gezeigt wird das Signal von einem Mikroarray nach der Inkubation von vier Patientenseren und einer Probe von einem Blutspender (jeweils 1:10 verdünnt) mit IgG sekundärem Antikörper.

10 **Beispiel 1: Identifizierung von Laminin beta-4 als diagnostisch relevantes Autoantigen**

Herstellung von dermalem Extrakt

Zur Identifizierung eines weiteren Autoantigens des Anti-p200-Pemphigoids wurde zunächst
15 eine Immunpräzipitation mit Extrakt humaner Dermis und aufgereinigter Patientenantikörper durchgeführt.

Dazu erfolgte zunächst der Herstellung des dermalen Extraktes (Zillikens D, Kawahara Y, Ishiko A, Shimizu H, Mayer J, Rank C V, Liu Z, Giudice G J, Tran H H, Marinkovich M P, Brocker E B, and Hashimoto T, A novel subepidermal blistering disease with autoantibodies to a 200-kDa antigen of the basement membrane zone. J Invest Dermatol, 1996. 106(6): p. 1333-8). Humane Hautstücke wurden für 48h in PBS (phosphate-buffered saline) mit 1M NaCl, 5mM EDTA, 1 mM PMSF und Proteaseinhibitor Cocktail (Set III, Merck) bei 4°C
20 inkubiert. Nach 48h konnten dann die Dermis und die Epidermis voneinander getrennt werden. Um die Proteine aus der Dermis zu extrahieren, wurde die Dermis zunächst mit einem 4 M Harnstoffpuffer (4M Harnstoff, 12,5 mM Tris-HCl pH 6,8, 5 mM EDTA, 1 mM PMSF) für 10 min überschichtet, dann der Puffer entfernt und anschließend mit einem 9 M Harnstoffpuffer (9 M Harnstoff, 12,5 mM Tris-HCl pH 6,8, 2%SDS, 100 mM DTT, 5 mM EDTA und 1 mM PMSF) für 1 Stunde inkubiert. Das resultierende Extrakt wurde mittels
25 Entsalzungssäulen (Zeba™ Spin Desalting Columns, Thermo Scientific) in RIPA Puffer (Radioimmunoprecipitation assay buffer: 0,1% SDS, 1% NP-40, 0,5% Na-deoxycholat, Proteaseinhibitoren (1 Tablette SIGMAFAST™ Protease Inhibitor Cocktail Tablets, EDTA-Free, Sigma Aldrich)) umgepuffert und bis zur Verwendung bei -20°C gelagert.

35

Affinitätsreinigung von IgG-Antikörpern

Anti-p200-Pemphigoid IgG wurde mittels Protein G Sepharose (Genscript) nach Angaben des Herstellers aufgereinigt. Im Anschluss wurden die hLAMC1-cterm (C-Terminus von humanem Laminin gamma-1, Aminosäuren 1363-1609) spezifischen Autoantikörper mit Hilfe
5 einer Affinitätsaufreinigung isoliert (Vafia K, Groth S, Beckmann T, Hirose M, Dworschak J, Recke A, Ludwig R J, Hashimoto T, Zillikens D, and Schmidt E, Pathogenicity of autoantibodies in anti-p200 pemphigoid. PLoS One, 2012. 7(7): p. e41769). Für die spezifische Aufreinigung der Patientenantikörper wurde zunächst hLAMC1-cterm-pQE40 in
10 *E. coli* Rosetta 2 DE3 (Novagen/Merck, Darmstadt) transformiert, das Protein exprimiert und aufgereinigt (mittels IMAC). Schließlich erfolgte eine kovalente Kopplung des rekombinanten hLAMC1-cterm Proteins an Affigel 15 (BIO RAD) nach Angaben des Herstellers (Groth S, Recke A, Vafia K, Ludwig R J, Hashimoto T, Zillikens D, and Schmidt E, Development of a simple enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of autoantibodies in anti-p200 pemphigoid. Br J Dermatol, 2011. 164(1): p. 76-82). Mit Hilfe dieser spezifischen
15 Affinitätschromatographie konnten die hLAMC1-cterm spezifischen Autoantikörper aus den IgG Präparationen der Anti-p200-Pemphigoid Patientenseren entfernt werden.

Immunpräzipitation

In der Immunpräzipitation wurden das umgepufferte dermale Extrakt als Proteinquelle und die aufgereinigten Patienten IgG ohne hLAMC1-cterm Reaktivität, ein Anti-p200-Pemphigoidserum ohne hLAMC1-cterm Antikörper und die entsprechenden Kontrollen gesunder Blutspender eingesetzt.

Zunächst wurde die Protein G Sepharose (GammaBind G Sepharose, GE Healthcare) mit RIPA Puffer gewaschen und mit Serum eines gesunden Blutspenders präadsorbiert. Nach der einstündigen Präadsorption und Zentrifugation wurde die Sepharose jeweils mit:

1. 30 µg Patienten IgG (Pool) ohne hLAMC1-cterm Reaktivität
2. 20 µl Patientenserum
3. 30 mg NH IgG (normales humanes IgG von gesunden Blutspendern)
4. 20 µl NHS (normales humanes Serum von einem gesunden Blutspender)
5. nur RIPA Puffer

in RIPA Puffer für 1h unter Rotation bei Raumtemperatur inkubiert und anschließen mit RIPA Puffer gewaschen. In jedes Reaktionsgefäß wurden dann 200 µl des umgepuffertem dermalen Extraktes pipettiert und die Reaktionsansätze dann über Nacht auf dem Rotator bei 4°C inkubiert. Nach einem Waschschrift mit RIPA-Puffer erfolgte ein Waschschrift mit Saccharose Puffer (1 M Saccharose, 150 mM NaCl, 10 mM EDTA, 10 mM HNaPO₄). Abschließend erfolgte nochmal ein Waschschrift mit RIPA Puffer. Die Proben wurden jeweils mit 20 µl Lämmli-puffer 5 min bei 95°C erhitzt, zentrifugiert und die Proben auf 7,5%ige PROTEAN TGX Protein Gele (BIO RAD) aufgetragen.

Eine Hälfte vom Gel wurde Coomassie (Silver blue) gefärbt und die andere Hälfte wurde nach Transfer der Proteine auf eine Nitrozellulosemembran im Westernblot mit einem Anti-p200-Pemphigoidserum (Verdünnung 1:50, Inkubation über Nacht bei 4°C) analysiert. Bei den verwendeten Puffern handelte es sich um TBS-T mit 5% Milchpulver, zum Absättigen freier Bindungsstellen und TBST mit 5% Milchpulver und 1% BSA als Inkubationspuffer. Als Sekundärantikörper diente ein Anti-human IgG4 HRP Antikörper (1:2000, Klon HP6025, Southern Biotech). Der Blot wurde mit DAB (3,3'-Diaminobenzidin) entwickelt. Es konnte ein deutliches Signal bei ca. 200 kD beobachtet werden (**Fig. 1**). Die entsprechenden Banden aus dem Coomassie-gefärbten Gel wurde einer LC-MS/MS Analyse (Wistar

Institute, Philadelphia) unterzogen und konnte als Laminin beta-4 (LAMB4) identifiziert werden.

5 **Beispiel 2: Überprüfung der Lokalisation von Laminin beta-4**

Um die Lokalisation des Laminin beta-4 in der Haut zu überprüfen, wurde zunächst ein kommerziell erhältlicher Anti-Laminin beta-4 Antikörper (polyklonal, Cloud-Clone; PAC079Hu01) in der indirekten Immunfluoreszenz eingesetzt. Im Gegensatz zur
10 Negativkontrolle bindet der Anti-Laminin beta-4 Antikörper, genau wie die Anti-p200-Pemphigoidseren (nicht gezeigt), im Boden der künstlichen Blase in humaner salzgespaltener Haut. Zusätzlich wurde der Anti-Laminin beta-4 Antikörper auch im Westernblot mit dermale Extrakt getestet (Durchführung siehe oben). Der Westernblot mit dermale humanem Extrakt ist der derzeitige diagnostische Standard für die Diagnose
15 Anti-p200-Pemphigoid. Wie **Fig. 2** zeigt, reagiert der Anti-Laminin beta-4 Antikörper (Streifen 4) mit einer Proteinbande, die sich auf gleicher Höhe mit dem Signal der Anti-p200 Pemphigoidseren (Streifen 1 und 2) befindet. Das Signal des kommerziellen monoklonalen Laminin gamma-1 Antikörpers (Klon B-4, Santa Cruz) ist leicht nach oben verschoben.

20 Zusätzlich wurde der kommerzielle Anti-Laminin beta-4 Antikörper für eine Immunpräzipitation verwendet. Als Laminin beta-4 Quelle wurde auch hier wieder das dermale Extrakt verwendet. Für die Immunpräzipitation (Durchführung siehe oben) wurden 5 und 10 µg Anti-Laminin beta-4 Antikörper eingesetzt. Als Kontrollen wurden Anti-NC16A Kaninchen IgG (10 µg), normales Kaninchen IgG (10 µg) und die GammaBind G Sepharose
25 alleine eingesetzt. In der anschließenden Westernblot-Analyse erfolgte die Detektion von Laminin beta-4 mit einem Pool aus Anti-p200-Pemphigoid IgG ohne Laminin gamma-1 Reaktivität. In **Fig. 2** kann man deutlich erkennen, dass die Anti-p200-Pemphigoid Patienten Autoantikörper gegen Laminin beta-4 aufweisen.

30

Beispiel 3: Klonierung

Laminin beta-4 (LAMB4) wurde als Variante mit C-terminal fusioniertem Polyhistidin-Tag und als authentische Variante rekombinant hergestellt. Der cDNA-Klon IRCBp5005F2212Q,
35 kodierend für die Isoform 1 vom humanen Laminin beta-4, wurde von der Firma Source BioScience (Großbritannien) erworben und als Template für die PCR eingesetzt.

Für die Amplifikation der kodierenden Sequenz von Laminin beta-4 wurden für das Fragment ohne Translations-Stop-Codon am Ende der für Laminin beta-4 kodierenden Sequenz der sense-Primer LAMB4 (SEQ ID NO 1) und der asense-Primer LAMB4 (SEQ ID NO 2) genutzt.
5 Die Amplifikation der Laminin beta-4-cDNA mit Translations-Stop-Codon am Ende der kodierenden Sequenz erfolgte mit dem sense-Primer LAMB4 (SEQ ID NO 1) und dem asense-Primer LAMB4-Stop (SEQ ID NO 3).

Beide PCR-Produkte enthielten an den Enden Schnittstellen für das Restriktionsenzym Bsal.
10 Nach Bsal-Verdau wurden die Laminin beta-4-Amplifikate mit dem NcoI/XhoI-linearisierten Plasmidvektor pTriEx-1 (Merck, Darmstadt, Germany, SEQ ID NO 4) ligiert, so dass sich die Konstrukte gemäß SEQ ID NO 5 bzw. SEQ ID NO 6 ergeben. Die Ligationsansätze wurden in *E. coli* NEB 5-alpha (New England Biolabs GmbH) transformiert und Transformanden durch 100 µg/ml Ampicillin selektiert. Die isolierten Plasmide wurden durch
15 Restriktionsanalysen und DNA-Sequenzierung auf Richtigkeit überprüft und für die Transfektion von HEK293-Zellen eingesetzt.

Beispiel 4: Transfektion von HEK Zellen und Westernblot-Analyse

20 Zur Überprüfung, dass es sich bei Laminin beta-4 tatsächlich um ein Zielantigen des Anti-p200 Pemphigoids handelt, wurden HEK293 Zellen mittels jetPRIME (Polyplus transfection) mit dem LAMB4-pTriEx1 (mit His-Tag, SEQ ID NO 7) oder dem Leervektor transfiziert und nach 48h die Expression mittels kommerziellen Anti-Laminin beta-4 Antikörpers (s.o.) im
25 Westernblot überprüft. Insgesamt wurden im Westernblot mit dem Laminin beta-4-HEK293 Extrakt (RIPA-Puffer) 49 Anti-p200-Pemphigoid Seren (Verdünnung 1:50) und 20 Seren gesunder Blutspender (NHS, normale humane Seren, Verdünnung 1:50) auf ihre Reaktivität mit Laminin beta-4 untersucht. Dazu wurde die fertige Nitrozellulosemembran in Streifen
30 geschnitten. Als Positivkontrolle wurde der kommerzielle Anti-Laminin beta-4 Antikörper (Verdünnung 1:2000) eingesetzt. Die Inkubation der Streifen mit den Primärantikörpern erfolgte über Nacht bei 4°C. Auch hier dienten, wie oben beschrieben, ein Anti-human IgG4 HRP und ein Maus Anti-Kaninchen-HRP Antikörper als Sekundärantikörper. Der Blot wurde für 1 min mit DAB entwickelt. Insgesamt reagierten 47 der 49 Anti-p200-Pemphigoidseren mit Laminin beta-4 wobei die Negativkontrollen keine Reaktionen aufwiesen.

35

Beispiel 5: Präadsorptionsstudie

Die korrekte Identifizierung von Laminin beta-4 wurde durch eine Präadsorptionsstudie bestätigt. Dazu wurden drei Anti-p200-Pemphigoidseren (ohne Laminin gamma-1 Reaktivität) mit dem Laminin beta-4-HEK293 Extrakt über Nacht bei 4°C präadsorbiert und dann auf ihre verbleibende Reaktivität im Westernblot mit dermale Extrakt und Laminin beta-4-HEK 293 Extrakt getestet (**Fig. 4**). Die Westernblot-Analyse wurde wie oben beschrieben durchgeführt. Im Vergleich zu den nicht-präadsorbierten Seren (**Fig. 4**, Streifen 1, 3 und 5) wiesen die präadsorbierten Seren keine Reaktivität mehr mit dem Laminin beta-4-HEK293 Extrakt und 2 der 3 präadsorbierten Seren reagierten auch nicht mehr mit dem 200 kDa großen Protein im dermalen Extrakt. Die Reaktion ließ sich also neutralisieren. Nur Serum Nr.2 wies noch eine abgeschwächte Reaktion bei etwa 200 kDa auf. Dieses Anti-p200 Pemphigoidserum sollte eigentlich keine Reaktivität mit Laminin gamma-1 aufwiesen wurde aber trotzdem nochmal mittels hLAMC1-cterm Westernblot untersucht. Es stellte sich heraus, dass Serum Nr.2 tatsächlich Laminin gamma-1 Autoantikörper besaß, wodurch sich die Reaktion im dermalen Extrakt erklären lässt.

Durch eine Präadsorption des Serums Nr. 2 mit hLAMC1-cterm und dem Laminin beta-4-HEK293 Extrakt konnte die Autoantikörperreaktivität mit beiden Extrakten aufgehoben werden. Als Negativkontrolle diente in dieser Studie das Serum eines gesunden Blutspenders (NHS).

Beispiel 6: Grobes Epitopmapping

Zur Identifizierung grober Epitope wurden sechs Teilfragmente von Laminin beta-4 (SEQ ID NO15, SEQ ID NO16, SEQ ID NO17, SEQ ID NO18, SEQ ID NO19 und SEQ ID NO20) kloniert und im pET24d-Vektor mit C-terminalem His-Tag unter Verwendung von Standardprotokollen exprimiert (SEQ ID NO 21, SEQ ID NO22, SEQ ID NO23, SEQ ID NO24, SEQ ID NO25 und SEQ ID NO26). Sofern die Konstrukte dabei nicht ohnehin vier Tryptophan-Rest aufwiesen, wurden diese in der Zahl künstlich anfusioniert, dass jedes Konstrukt zur Konzentrationsmessung vier Tryptophane aufwies.

Die Konstrukte wurden einer Westernblot-Analyse unterzogen, wie in Beispiel 1 beschrieben ist.

Die Ergebnisse sind in Tabelle 1 zusammengefasst. Im Wesentlichen zeigte sich erhebliche Aktivität gegen Teilfragment (TF) 5 und TF 6. Hingegen zeigten die Seren von Blutspendern (BS) praktisch keine Reaktivität.

	Seren	TF 1	TF 2	TF 3	TF 4	TF 5	TF 6
p200	1	+	schwach +	+	schwach +	+	+++
	2	-	-	-	-	schwach +	+++
	3	+	+	+	-	-	+++
	4	-	-	-	-	-	+++
	5	-	+	-	+	++	+++
	6	-	-	-	-	++	+++
	7	+	+	-	-	++	+++
	8	+	+	schwach +	+	++	+++
	9	-	-	-	-	++	+++
	10	-	-	+	-	+	+++
	11	+	-	schwach +	-	++	+++
	12	+	+	schwach +	-	++	+++
	13	-	-	-	-	+	+++
	14	-	-	-	-	++	++
	15	-	-	-	-	+	++
	16	-	-	-	-	-	++
	17	-	-	-	-	+	+++
	18	-	-	-	+	-	+++
	19	-	-	-	-		+++
	20	-	-	-	+		+++
		6/20	6/20	6/20	5/20	14/20	20/20
NHS	BS1		-	-	-	-	-
	BS2	-	-	-	-	-	-
	BS3	-	-	-	-	-	-
	BS4	-	-	-	-	-	-
	BS5	-	-	-	-	-	-
	BS6	-	-	-	-	-	-
	BS7	-	-	-	-	-	-
	BS8	-	-	-	-	-	-
	BS9	-	-	-	-	-	-
	BS10	-	-	-	-	-	-
	BS11	-	-	-	-	-	-
	BS12	-	-	-	-	-	-
	BS13	-	-	-	-	-	-
	BS14	unspezifisch	unspezifisch	unspezifisch	unspezifisch	unspezifisch	unspezifisch
	BS15	-	-	-	-	-	-
	BS16	-	-	-	-	-	-
	BS17	-	-	-	-	-	-
	BS18	-	-	-	-	-	schwach?
	BS19	unspezifisch	unspezifisch	unspezifisch	unspezifisch	unspezifisch	unspezifisch
	BS20	-	-	-	-	-	-
							ev. 1 /20

Beispiel 7: Genaues Epitopmapping

Vier Patientenseren umfassend Autoantikörper gegen Laminin beta-4 wurden für ein Epitopmapping eingesetzt. Das Serum eines Blutspenders wurde zusätzlich inkubiert, um
5 unspezifische Reaktionen erkennen zu können. Es wurden lineare 15mer-Peptide mit einer Überlappung von 14 Aminosäuren eingesetzt, die den C-terminalen Teil, genauer die Teilfragmente 5 (SEQ ID NO19) und 6 (SEQ ID NO20) abbilden. Die Peptide wurden mit den Proben bei einer Verdünnung von 1:100 in Inkubationspuffer (PBS, pH 7.4 mit 0.05% Tween
10 20 mit 10% Rockland blocking-Puffer MB-070) kontaktiert, 16 h bei 4°C und Schütteln bei 140 upm und in Verdünnungen von 1:500, 1:100 und 1:10 in Inkubationspuffer inkubiert, gefolgt von 45 min. Färben mit sekundären (Maus anti-human IgG (Fc) DyLight680 (0,5 µg/ml) und Kontroll-Antikörpern (Maus monoklonal anti-HA (12CA5) DyLight680 (0,2 µg/ml). Die Auslesung erfolgte mit einem LI-COR Odyssey Imaging System. Die Quantifizierung der Spotintensitäten und die Peptidannotation wurden mit einem PepSlide-Analyzer
15 durchgeführt. Beispielhafte Primärdaten sind in **Fig. 5** zu sehen.

Ergebnis: es wurden geringe bis moderate spezifische Antikörperreaktionen mit Peptiden festgestellt, so dass die Epitope mit den Sequenzen SEQ ID NO 8, SEQ ID NO 9, SEQ ID
20 NO 10, SEQ ID NO 11, SEQ ID NO 12, SEQ ID NO 13 und SEQ ID NO 14 identifiziert werden konnten.

SEQUENCE LISTING

<110> EUROIMMUN Medizinische Labordiagnostika AG

<120> Diagnose blasenbildender Autoimmunkrankheiten

<130> P31-220

<150> EP 18201752.5

<151> 2018-10-22

<160> 31

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 45

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> sense LAMB4 Primer

<400> 1

ataggtctca catgcaattt caactgacc ttttttgca ccttg

45

<210> 2

<211> 45

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> asense LAMB4 Primer

<400> 2

ataggtctcg tcgaggctat agcacctagc atatTTTTTT tcttg

45

<210> 3

<211> 48

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> LAMB4-Stop Primer

<400> 3

ataggtctcc tcgagctagc tatagcacct agcatTTTTT tttcttg

48

<210> 4
<211> 5758
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> pTriEx-1

<400> 4
ggggaattgt gagcggataa caattccccg gagttaatcc gggaccttta attcaaccca 60
acacaatata ttatagttaa ataagaatta ttatcaaatc atttgatat taattaaaat 120
actatactgt aaattacatt ttatttaca tcaaaggaga tataccatgg cgatatcccg 180
ggagctcgtg gatccgaatt ctcagatctc ggcgcgctg caggtcgacg gtaccggttc 240
gaagcttgcg gccgcacagc tgtatacacg tgcaagccag ccagaactcg ccccggaaga 300
ccccgaggat ctcgagcacc accatcacca tcaccatcac taagtgatta acctcaggtg 360
caggctgcct atcagaaggt ggtggctggt gtggccaatg ccctggctca caaataccac 420
tgagatcgat cttttccct ctgccaaaaa ttatggggac atcatgaagc cccttgagca 480
tctgacttct ggctaataaa ggaatttat tttcattgca atagtgtgtt ggaatTTTT 540
gtgtctctca ctcggaagga catatgggag ggcaaatcat ttaaacatc agaatgagta 600
tttggttag agtttgcaa catatgccca tatgtaacta gcataacccc ttggggcctc 660
taaacgggtc ttgaggggtt ttttgctgaa agcatgcgga ggaaattctc cttgaagttt 720
ccctggtggt caaagtaaag gagtttgac cagacgcacc tctgttcaact ggtccggcgt 780
attaaaacac gatacattgt tattagtaca tttattaagc gctagattct gtgcgttggt 840
gatttacaga caattgttgt acgtatttta ataattcatt aaatttataa tctttagggt 900
ggtatgtag agcgaatac aatgatttt cagcgtcttt atatctgaat ttaaataata 960
aatcctcaat agatttgtaa aataggtttc gattagtttc aaacaagggt tgTTTTCCG 1020
aaccgatggc tggactatct aatggatttt cgctcaacgc cacaaaactt gccaaatctt 1080
gtagcagcaa tctagctttg tcgatattcg tttgtgtttt gttttgtaat aaaggttcga 1140
cgtcgttcaa aatattatgc gcttttgtat ttctttcatc actgtcgtta gtgtacaatt 1200
gactcgacgt aaacacgtta aatagagctt ggacatattt aacatcgggc gtgtagctt 1260

tattaggccg attatcgtcg tcgtcccaac cctcgtcgtt agaagttgct tccgaagacg	1320
atlttgccat agccacacga cgcctattaa ttgtgtcggc taacacgtcc gcgatcaaat	1380
ttgtagttga gctttttgga attatttctg attgcggggc tttttgggcg ggtttcaatc	1440
taactgtgcc cgattttaat tcagacaaca cgtagaaag cgatggtgca ggcggtggtg	1500
acatttcaga cggcaaatct actaatggcg gcggtggtgg agctgatgat aaatctacca	1560
tcggtggagg cgcaggcggg gctggcggcg gaggcggagg cggaggtggt ggcggtgatg	1620
cagacggcgg tttaggctca aatgtctctt taggcaacac agtcggcacc tcaactattg	1680
tactggttc gggcgcggtt tttggtttga ccggtctgag acgagtgcga ttttttctg	1740
ttctaatagc ttccaacaat tgttgtctgt cgtctaaagg tgcagcgggt tgaggttccg	1800
tcggcattgg tggagcgggc ggcaattcag acatcgtatg tgggtggtgt ggtggaggcg	1860
ctggaatggt aggcacggga gaaggtggtg gcggcgggtc cgcgggtata attgttctg	1920
gtttagttg ttcgcgcacg attgtgggca ccggcgcagg cgcgcgtggc tgcacaacgg	1980
aaggtcgtct gcttcgaggc agcgccttggg gtggtggcaa ttcaatatta taattggaat	2040
acaaatcgta aaaatctgct ataagcattg taatttcgct atcgtttacc gtgccgatat	2100
ttaacaaccg ctcaatgtaa gcaattgtat tgtaaagaga ttgtctcaag ctcggaacgc	2160
tgcgctcggc cgttcggctg cggcgcggcg tatcagctca ctcaaaggcg gtaatacggc	2220
tatccacaga atcaggggat aacgcaggaa agaacatgtg agcaaaaggc cagcaaaagg	2280
ccaggaaccg taaaaaggcc gcgttgctgg cgtttttcca taggctccgc cccctgacg	2340
agcatcacia aaatcgacgc tcaagtcaga ggtggcgaaa cccgacagga ctataaagat	2400
accaggcgtt tcccctgga agctccctcg tgcgctctcc tgttccgacc ctgcogctta	2460
ccgataacct gtccgccttt ctcccttcgg gaagcgtggc gctttctcaa tgcctacgct	2520
gtaggtatct cagttcgggt taggtcgttc gctccaagct gggctgtgtg cacgaacccc	2580
ccgttcagcc cgaccgctgc gccttatccg gtaactatcg tcttgagtcc aaccggtaa	2640
gacacgactt atcgccactg gcagcagcca ctggtaacag gattagcaga gcgaggtatg	2700
taggcgggtc tacagagttc ttgaagtgtt ggcctaacta cggctacact agaaggacag	2760
tatttggtat ctgcgctctg ctgaagccag ttaccttcgg aaaaagagtt gtagctctt	2820

gatccggcaa acaaaccacc gctggtagcg gtggTTTTTT tgtttgcaag cagcagatta	2880
cgcgcagaaa aaaaggatct caagaagatc ctttgttacc aatgcttaat cagtgaggca	2940
cctatctcag cgatctgtct atttcgttca tccatagttg cctgactccc cgtcgtgtag	3000
ataactacga tacgggaggg cttaccatct ggccccagtg ctgcaatgat accgcgagac	3060
ccacgctcac cggctccaga tttatcagca ataaaccago cagccggaag ggccgagcgc	3120
agaagtggtc ctgcaacttt atccgcctcc atccagtcta ttaattgttg ccgggaagct	3180
agagtaagta gttcggcagt taatagtttg cgcaacgttg ttgccattgc tacaggcatc	3240
gtggtgtcac gctcgtcgtt tggatggct tcattcagct ccggttccca acgatcaagg	3300
cgagttacat gatcccccatt gttgtgcaaa aaagcggta gtccttcgg tcctcgcgac	3360
gttgtcagaa gtaagtggc cgcagtgta tcaactcatg ttatggcagc actgcataat	3420
tctcttactg tcatgccatc cgtaagatgc ttttctgtga ctggtgagta ctcaaccaag	3480
tcattctgag aatagtgtat gcggcgaccg agttgctctt gcccgcgctc aatacgggat	3540
aataccgcgc cacatagcag aactttaaaa gtgctcatca ttgaaaacg ttcttcgggg	3600
cgaaaactct caaggatctt accgctgttg agatccagtt cgatgtaacc cactogtgca	3660
cccaactgat cttcagcatc ttttactttc accagcgttt ctgggtgagc aaaaacagga	3720
aggcaaatg ccgcaaaaaa gggaataagg gcgacacgga aatggtgaat actcatactc	3780
ttcctttttc aatattattg aagcatttat cagggttatt gtctcatgtc cgcgcgtttc	3840
ctgcatcttt taatcaaatc ccaagatgtg tataaaccac caaactgcc aaaaatgaaa	3900
actgtcgaca agctctgtcc gtttgctggc aactgcaagg gtctcaatcc tatttgtaat	3960
tattgaataa taaaacaatt ataaatgtca aatttgtttt ttattaacga tacaaccaa	4020
acgcaacaag aacatttgta gtattatcta taattgaaaa cgcgtagtta taatcgctga	4080
ggtaatattt aaaatcattt tcaaatgatt cacagttaat ttgcgacaat ataattttat	4140
tttcacataa actagaogcc ttgtcgtctt cttcttcgta ttctttctct ttttcatttt	4200
tctcttcata aaaattaaca tagttattat cgtatccata tatgtatcta tcgtatagag	4260
taaatttttt gttgcataa atatatatgt cttttttaat ggggtgtata gtaccgctgc	4320

gcatagtttt tctgtaattt acaacagtgc tattttctgg tagttcttcg gagtgtgttg 4380
 ctttaattat taaatttata taatcaatga atttgggato gtcggttttg tacaatatgt 4440
 tgccggcata gtacgcagct tcttctagtt caattacacc attttttagc agcaccggat 4500
 taacataact ttccaaaatg ttgtacgaac cgtaaaciaa aaacagttca cctccctttt 4560
 ctatactatt gtctgcgagc agttgtttgt tgtaaanaat aacagccatt gtaatgagac 4620
 gcacaaacta atatacaaaa ctggaaatgt ctatcaatat atagttgctc tagttattaa 4680
 tagtaatcaa ttacggggtc attagttcat agcccatata tggagtccg cgttacataa 4740
 cttacggtaa atggcccgcc tggctgaccg cccaacgacc cccgcccatt gacgtcaata 4800
 atgacgtatg ttcccatagt aacgccaata gggactttcc attgacgtca atgggtggac 4860
 tatttacggt aaactgocca cttggcagta catcaagtgt atcatatgcc aagtacgcc 4920
 cctattgacg tcaatgacgg taaatggccc gcctggcatt atgcccagta catgacctta 4980
 tgggactttc ctacttgga gtacatctac gtattagtca tcgctattac catgcatggt 5040
 cgaggtgagc cccacgttct gttcactct ccccatctcc cccccctcc caccoccaat 5100
 tttgtattta tttattttt aattattttg tgcagcgatg ggggcggggg gggggggggg 5160
 gcgcgcgcca ggcggggcgg ggcggggcga ggggcggggc ggggcgaggc ggagaggtgc 5220
 ggcggcagcc aatcagagcg gcgcgctccg aaagtttctt tttatggcga ggcggcggcg 5280
 gcggcgccc tataaaaagc gaagcgcgcg gcggcgggga gtcgctgca cgctgccttc 5340
 gccccgtgcc ccgctccgcc gccgcctgc gccgcccgcc ccggctctga ctgaccgcgt 5400
 tactcccaca ggtgagcggg cgggacggcc cttctccttc gggctgtaat tagccttgg 5460
 tttaatgacg gcttgtttct tttctgtggc tgcgtgaaag ccttgagggg ctccgggagg 5520
 gccctttgtg cggggggagc ggctcggggc tgtccgcggg gggacggctg ccttcggggg 5580
 ggacggggca gggcggggtt cggcttctgg cgtgtgaccg gcggctctag agcctctgct 5640
 aacctgttc atgccttctt ctttttcta cagctcctgg gcaacgtgct ggttattgtg 5700
 ctgtctcatc attttgcaa agaattggat cggaccgaaa ttaatacgac tcaactata 5758

<210> 5
 <211> 10897

<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> pTriEx-1-LAMB4 (IF1) [human]

<400> 5
ggagtcgctg cgacgctgcc ttcgccccgt gccccgctcc gccgccgctt cgcgccgccc 60
gccccggctc tgactgaccg cgttactccc acaggtgagc gggcgggacg gcccttctcc 120
ttcgggctgt aattagcgt tggtttaatg acggcttgtt tctttctgt ggctgctga 180
aagccttgag gggctccggg agggcccttt gtgcgggggg agcggctcgg ggctgtccgc 240
ggggggacgg ctgccttcgg gggggacggg gcagggcggg gttcggcttc tggcgtgtga 300
ccggcggctc tagagcctct gtaacctatg ttcatgcctt cttcttttcc ctacagctcc 360
tgggcaacgt gctggttatt gtgctgtctc atcattttgg caaagaattg gatcggaccg 420
aaattaatac gactcactat aggggaattg tgagcggata acaattcccc ggagttaatc 480
cgggaccttt aattcaacc aacacaatat attatagtta aataagaatt attatcaaat 540
catttgata ttaattaa tactatactg taaattacat tttatttaca atcaaaggag 600
atataccatg caatttcaac tgaccctttt tttgcacctt ggggtgctca gttactcaaa 660
agctcaagat gactgcaaca ggggtgcctg tcatcccacc actggtgatc tcctggtggg 720
caggaacacg cagcttatgg cttcttctac ctgtgggctg agcagagccc agaaatactg 780
catcctcagt tacctggagg gggaaacaaa atgcttcacg tgtgactcta gatttcata 840
tgatccgat gaccaacca acagccacac cattgagaat gtcatgtaa gtttgaacc 900
agacagagaa aagaaatggt ggcaatctga aaatggtctt gatcatgtca gcatcagact 960
ggacttagag gcattatttc gttcagcca ccttatcctg accttaaga cttttcggcc 1020
tgctgcaatg ttagttgaac gttcacaga ctatggacac aactggaaag tttcaaata 1080
ttttgcaaaa gactgtgcc a tctctttcc taacatcaca tctggccagg cccagggagt 1140
gggagacatt gtttgtgact ccaaatactc ggatattgaa ccctcaacag gtggagaggt 1200
tgttttaaaa gttttggatc ccagttttga aattgaaaac ctttatagcc cctacatcca 1260
agaccttgtg acattgaaa acctgaggat aaactttacc aagctccaca cccttgggga 1320

tgctttgctt ggaaggaggc aaaatgattc ccttgataaa tactactatg ctctgtacga	1380
gatgattggt cggggaagct gcttttgcaa tggccatgct agcgaatgtc gcctatgca	1440
gaagatgogg ggagatgttt tcagccctcc tggaatggtt cacggtcagt gtgtgtgtca	1500
gcacaataca gatggtccga actgtgagag atgcaaggac ttcttcagg atgctccttg	1560
gaggccagct gcagacctcc aggacaacgc ttgcagatcg tgcagctgta acagccactc	1620
cagccgctgt cactttgaca tgactacgta cctggcaagc ggtggcctca gcgggggct	1680
gtgtgaagac tgccagcaca aactgaggg gcagcactgc gaccgtgca gaccctctt	1740
ctacagggac ccgctcaaga ccatctcaga tccctacgcg tgcatcctt gtgaatgtga	1800
ccccgatggg accatatctg tggcatttg tgtgagccac tctgatcctg ccttagggtc	1860
tgtggctggc cagtgccttt gtaaagagaa cgtggaagga gccaaatgcg accagtgcaa	1920
accaaccac tatggactaa gcgccaccga ccccctgggc tgccagccct gcgactgtaa	1980
cccccttggg agtctgcat tcttgacctg tgatgtggat acaggccaat gcttgtgct	2040
gtcatatgtc accggagcac actgcgaaga atgcactgtt ggatactggg gcctgggaaa	2100
tcatctccat ggggtttctc cctgtgactg tgatattgga ggtgcttatt ctaactgtg	2160
ctcacccaag aatgggcagt gtgaatgccg cccacatgtc actggccgta gctgctctga	2220
accagcccct ggctacttct ttgctccttt gaatttctat ctctacgagg cagaggaagc	2280
cacaacactc caaggactgg cgcctttggg ctcggagacg tttggccaga gtccctgctgt	2340
tcacgttggt ttaggagagc cagttcctgg gaaccctgtt acatggactg gacctggatt	2400
tgccagggtt ctccctgggg ctggcttgag atttgctgtc aacaacattc ctttctctgt	2460
ggacttcacc attgccattc actatgaaac ccagtctgca gctgactgga ctgtocagat	2520
tgtggtgaac ccccctggag ggagtgagca ctgcataccc aagactctac agtcaaagcc	2580
tcagtctttt gccttaccag cggctacgag aatcatgctg cttccacac ccatctgttt	2640
agaaccagat gtacaatatt ccatagatgt ctatttttct cagcctttgc aaggagagtc	2700
ccacgctcat tcacatgtcc tggtgactc tcttggcctt attccccaaa tcaattcatt	2760
ggagaatttc tgcagcaagc aggacttaga tgagtatcag cttcacaact gtgttgaat	2820
tgctcagca atgggacctc aagtgtctcc gggtgcctgt gaaaggctga tcatcagcat	2880

gtctgccaag ctgcatgatg gggctgtggc ctgcaagtgt caccocagg gctcagtcgg	2940
atccagctgc agccgacttg gaggccagtg ccagtgtaaa cctcttgtgg tcgggcgctg	3000
ctgtgacagg tgctcaactg gaagctatga tttggggcat cacggctgtc acccatgtca	3060
ctgccatcct caaggatcaa aggacactgt atgtgaccaa gtaacaggac agtgcccctg	3120
ccatggagag gtgtctggcc gccgctgtga tcgctgcctg gcaggctact ttggatttcc	3180
cagctgccac ccttgccctt gtaataggtt tgctgaactt tgtgatcctg agacagggtc	3240
atgcttcaat tgtggaggct ttacaactgg cagaaactgt gaaagggtga ttgatggtta	3300
ctatggaaat ccttcttcag gacagccctg tcgtccttgc ctgtgtccag atgatccctc	3360
aagcaatcag tattttgcc attcctgtta tcagaatctg tggagctcag atgtaatctg	3420
caattgtctt caaggttata cgggtactca gtgtggagaa tgctctactg gtttctatgg	3480
aatccaaga atttcaggag caccttgcca accatgtgcc tgcaacaaca acatagatgt	3540
aaccgatcca gagtccctgca gccgggtaac aggggagtgc cttcgatgtt tgcaacaac	3600
tcagggcgca aactgccagc tctgcaaacc aggtcactat ggatcagccc tcaatcagac	3660
ctgcagaaga tgctcctgcc atgcttccgg cgtgagtcct atggagtgtc cccctggtgg	3720
gggagcttgc ctctgtgacc ctgtcactgg tgcatgtcct tgtctgccga atgtcacagg	3780
cctggcctgt gaccgttgtg ctgatggata ctggaatctg gtccctggca gaggatgtca	3840
gtcatgtgac tgtgacccta ggacctctca aagtagccac tgtgaccagc ttacaggcca	3900
gtgtccgtgt aaattaggtt acggcgggaa acgttgacgt gagtgccagg aaaattatta	3960
tggtgatcca cctgggcgat gcattccatg tgattgtaac agggcaggta cccagaagcc	4020
catctgtgat ccagacacag gcatgtgccg ctgccgggag ggtgtcagcg gccagagatg	4080
tgatcgtgt gccggggac acagccagga attccctact tgtcttcaat gtcacttgtg	4140
ctttgatcag tgggaccaca ccatttcttc cctctccaaa gcggtgcaag ggtaatgag	4200
actggctgct aacatggaag ataaaagaga gaccctgcct gtctgtgagg cagacttcaa	4260
agacctcaga gggaactgt ctgaaataga aaggattttg aaacatcctg tttcccatc	4320
tgggaaattc ttaaagtca aggattatca tgactctgtt agaagacaaa tcatgcagct	4380

aatgaaca	ctgaaagcag	tgtatgaatt	tcaagatctg	aaagatacaa	tagaaagagc	4440
aaagaatgaa	gcagacctct	tacttgaaga	ccttcaggaa	gaaattgatt	tgcaatccag	4500
tgtccttaat	gcaagcattg	cggaactctc	agaaaacatc	aagaaatatt	atcacatatac	4560
atcatctgct	gaaaagaaaa	ttaatgaaac	tagttccacc	attaatacct	ctgcaaatac	4620
aaggaatgac	ttacttacca	tcttagatac	actaacctca	aaaggaaact	tgtcattgga	4680
aagattaaag	cagattaaga	taccagatat	ccaaatattg	aatgaaaagg	tgtgcggaga	4740
tccaggaaat	gtgccatgtg	tgcccttgcc	ctgtggcggg	gctctctgca	cgggccggaa	4800
ggggcacagg	aagtgtaggg	gtcccggctg	tcacggctcc	ctgacctctc	caacgaatgc	4860
cctccaaaaa	gcccaggaag	caaaatccat	tattcgtaat	ttggacaaac	aggttcgtgg	4920
gttgaaaaat	cagatcgaac	gtataagtga	acaggcagaa	gtctccaaaa	acaatgcctt	4980
acagctgagg	gaaaaactgg	gaaatataag	aaaccaaagt	gactctgaag	aagaaaacat	5040
caatcttttc	atcaaaaaag	tgaaaaactt	tttgttagag	gaaaacgtgc	ctccagaaga	5100
catcgagaag	gttgcgatg	gtgtgcttga	cattcaccta	ccaattccat	cccaaatct	5160
aaccgatgaa	cttgtaaaaa	tacagaaaca	tatgcaactc	tgtgaggatt	acaggacaga	5220
tgaaaacagg	ttaaatgaag	aagcagatgg	agcccaaaag	cttttgggta	aggccaaagc	5280
agctgagaaa	gcagcaaata	ttctattaa	tcttgacaaa	acattgaacc	agttacaaca	5340
agctcaaatc	actcaaggac	gggcaaacctc	taccattaca	cagctgactg	ccaatataac	5400
aaaaataaaa	aagaatgtgc	tcagaggctga	aatcaaac	agggaaatga	agagtgagct	5460
ggagttagca	aagcagcgat	cagggctgga	ggatggactt	tcctgctgc	agaccaagtt	5520
gcaaaggcat	caagaccacg	ctgtcaatgc	gaaagttcag	gctgaaatctg	ccaacacca	5580
ggctgggagt	cttgagaagg	aatttgttga	gctgaaaaaa	caatatgcta	ttctccaacg	5640
taagacaagc	actacaggac	taacaaagga	gacattagga	aaagttaaac	agctaaaaga	5700
tgcggcagaa	aaattggctg	gagatacaga	ggccaagata	agaagaataa	cagattttaga	5760
aaggaaaatc	caagatttga	atctaagtag	acaagcaaaa	gctgatcaac	tgagaatatt	5820
ggaagatcaa	gttggtgcca	ttaaaaaatga	aattgttgaa	caagaaaaaa	aatatgctag	5880
gtgctatagc	ctcgagcacc	accatcacca	tcaccatcac	taagtgatta	acctcaggtg	5940

caggctgcct atcagaaggt ggtggctggt gtggccaatg ccctggctca caaataccac	6000
tgagatcgat cttttccct ctgcaaaaa ttatggggac atcatgaagc cccttgagca	6060
tctgacttct ggctaataaa gaaatttat tttcattgca atagtgtgtt ggaatTTTT	6120
gtgtctctca ctggaagga catatgggag ggcaaatcat ttaaacatc agaatgagta	6180
tttggttag agtttgcaa catatgccc tatgtaacta gcataacccc ttggggcctc	6240
taaacgggtc ttgaggggtt ttttgctgaa agcatgcgga gaaattctc cttgaagttt	6300
ccctgggtgtt caaagtaaag gagtttgac cagacgcacc tctgttcaact ggtccggcgt	6360
attaaaacac gatacattgt tattagtaca tttattaagc gctagattct gtgcgttgtt	6420
gatttacaga caattgtgt acgtatttta ataattcatt aaattataa tcttagggt	6480
ggtatgttag agcgaatac aatgatttt cagcgtcttt atatctgaat ttaaatatta	6540
aatcctcaat agatttgtaa aatagtttc gattagtto aaacaagggt tgttttccg	6600
aaccgatggc tggactatct aatggatttt cgctcaacgc cacaaaactt gccaaatctt	6660
gtagcagcaa tctagcttg tcgatattcg tttgtgtttt gttttgtaat aaaggttca	6720
ogtcgttcaa aatattatgc gcttttgtat ttctttcacc actgtcgta gtgtacaatt	6780
gactcgact aaacaagtta aatagagctt ggacatattt aacatcgggc gtgttagctt	6840
tattaggccg attatcgtcg tcgtcccaac cctcgtcgtt agaagttgct tccgaagacg	6900
atTTTgcat agccacacga cgctattaa ttgtgtcggc taacacgtcc gcgatcaaat	6960
ttgtagtga gctttttgga attatttctg attgcggcgc tttttggcgc ggtttcaatc	7020
taactgtgcc cgattttaat tcagacaaca cgttagaaag cgatggtgca ggcggtgta	7080
acatttcaga cggcaaatct actaatggcg gcggtggtgg agctgatgat aaatctacca	7140
tcggtggagg cgcaggcggg gctggcggcg gaggcggagg cggaggtggt ggcggtgatg	7200
cagacggcgg tttaggctca aatgtctctt taggcaacac agtcggcacc tcaactattg	7260
tactggttcc gggcgcogtt tttggtttga cgggtctgag acgagtoga ttttttctgt	7320
ttctaatagc ttccaacaat tgttctctgt cgtctaaagg tgcagcgggt tgaggttccg	7380
tcggcattgg tggagcgggc ggcaattcag acatcgtagg tgggtggtgt ggtggaggcg	7440

ctggaatggtt aggcacggga gaaggtgggtg gcggcggtgc cgccggtata atttgttctg	7500
gtttagtttg ttcgcgcacg attgtgggca ccggcgcagg cgccgctggc tgcacaacgg	7560
aaggtcgtct gcttcgaggc agcgcttggg gtggtggcaa ttcaatatta taattggaat	7620
acaaatcgta aaaatctgct ataagcattg taatttcgct atcgtttacc gtgccgatat	7680
ttaacaaccg ctcaatgtaa gcaattgtat tgtaaagaga ttgtctcaag ctcggaacgc	7740
tgcgctcggc cgttcggctg cggcgcagcg tatcagctca ctcaaaggcg gtaatacggc	7800
tatccacaga atcaggggat aacgcaggaa agaacatgtg agcaaaaggc cagcaaaagg	7860
ccaggaaccg taaaaaggcc gcgttgctgg cgtttttcca taggctccgc cccctgacg	7920
agcatcacia aatcgcacgc tcaagtcaga ggtggcgaag cccgacagga ctataaagat	7980
accaggcgtt tccccctgga agctccctcg tgcgctctcc tgttccgacc ctgccgctta	8040
ccggatacct gtccgccttt ctcccttcgg gaagcgtggc gctttctcaa tgctcagct	8100
gtaggtatct cagttcgggt taggtcgttc gctccaagct gggctgtgtg cacgaacccc	8160
ccgttcagcc cgaccgctgc gccttatccg gtaactatcg tcttgagtcc aaccggtaa	8220
gacacgaact atcgccactg gcagcagcca ctggtaacag gattagcaga gcgaggtatg	8280
taggcggtgc tacagagttc ttgaagtggc ggcctaacta cggctacact agaaggacag	8340
tatttggtat ctgcgctctg ctgaagccag ttaccttcgg aaaaagagtt gtagctctt	8400
gatccggcaa acaaaccacc gctggtagcg gtggtttttt tgtttgcaag cagcagatta	8460
cgcgcagaaa aaaaggatct caagaagatc ctttgttacc aatgcttaat cagtgaggca	8520
cctatctcag cgatctgtct atttcgttca tccatagttg cctgactccc cgtcgtgtag	8580
ataactacga tacgggaggg ctaccatct ggccccagt ctgcaatgat accgogagac	8640
ccacgctcac cggctccaga ttatcagca ataaaccagc cagccggaag ggccgagcgc	8700
agaagtggtc ctgcaacttt atccgcctcc atccagtcta ttaattgttg ccgggaagct	8760
agagtaagta gttcgcagc taatagtttg cgcaacgttg ttgccattgc tacaggcatc	8820
gtggtgtcac gctcgtcgtt tggtaggtc tcattcagct ccggttcca acgatcaagg	8880
cgagttacat gatccccat gttgtgcaaa aaagcggta gctccttcgg tcctccgatc	8940
gttgtcagaa gtaagttggc cgcagtgtta tcaactatgg ttatggcagc actgcataat	9000

tctcttactg tcatgccatc cgtaatgagc ttttctgtga ctggtgagta ctcaaccaag	9060
tcattctgag aatagtgtat gggcgaccg agttgctctt gcccgcgctc aatacgggat	9120
aataccgcbc cacatagcag aactttaaaa gtgctcatca ttgaaaaacg ttcttcgggg	9180
cgaaaactct caaggatctt accgctgttg agatccagtt cgatgtaacc cactcgtgca	9240
cccaactgat cttcagcatc ttttactttc accagcgttt ctgggtgagc aaaaacagga	9300
aggcaaaatg cgcgaaaaaa gggaataagg gcgacacgga aatggtgaat actcatactc	9360
ttcctttttc aatattattg aagcatttat cagggttatt gtctcatgtc cgcgcgtttc	9420
ctgcatcttt taatcaaate ccaagatgtg tataaaccac caaactgcc aaaaatgaaa	9480
actgtcgaca agctctgtcc gtttgctggc aactgcaagg gtctcaatcc tatttgtaat	9540
tattgaataa taaaacaatt ataatgtca aatttgtttt ttattaacga tacaaccaa	9600
acgcaacaag aacatttgta gtattatcta taattgaaa cgcgtagtta taatcgtga	9660
ggtaatattt aaaatcattt tcaaatgatt cacagttaat ttgcgacaat ataattttat	9720
tttcacataa actagacgcc ttgtcgtctt cttcttcgta ttccttctct ttttcatttt	9780
tctcttcata aaaattaaca tagttattat cgtatccata tatgtatcta tcgtatagag	9840
taaatttttt gttgtcataa atatatatgt cttttttaat ggggtgtata gtaccgctgc	9900
gcatagtttt tctgtaattt acaacagtgc tattttctgg tagttcttcg gagtgtgttg	9960
ctttaattat taaatttata taatcaatga atttgggac gtcggttttg tacaatatgt	10020
tgccggcata gtacgcagct tcttctagtt caattacacc attttttagc agcaccgat	10080
taacataact ttccaaaatg ttgtacgaac cgttaaaca aaacagtcca cctccccttt	10140
ctatactatt gtctgcgagc agttgtttgt tgtaaaaaat aacagccatt gtaatgagac	10200
gcacaaaacta atatcacaaa ctggaaatgt ctatcaatat atagttgctc tagttattaa	10260
tagtaatcaa ttacggggtc attagttcat agcccatata tggagttccg cgttacataa	10320
cttacggtaa atggcccgcc tggctgaccg cccaacgacc cccgcccatt gacgtcaata	10380
atgacgtatg ttcccatagt aacgccaata gggactttcc attgacgtca atgggtggac	10440
tatttacggt aaactgocca cttggcagta catcaagtgt atcatatgcc aagtacgcc	10500

cctattgacg tcaatgacgg taaatggccc gcctggcatt atgcccagta catgacctta 10560
 tgggactttc ctacttgga gtacatctac gtattagtca tcgctattac catgcatggt 10620
 cgaggtgagc cccacgttct gcttactct ccccatctcc cccccctccc ccccccaat 10680
 tttgtattta tttatTTTTT aattattttg tgcagcgatg ggggcggggg gggggggggg 10740
 gcgcgcgcca ggcgggcggg ggcggggcga ggggcggggc ggggcgaggc ggagaggtgc 10800
 ggcggcagcc aatcagagcg gcgcgctccg aaagtttctt tttatggcga ggcgcgggcg 10860
 gcggcgggccc tataaaaagc gaagcgcgcg gcggggcg 10897

- <210> 6
- <211> 10900
- <212> DNA
- <213> Artificial Sequence

- <220>
- <223> pTriEx-1-LAMB4 (IF1) [human] (dHis)

<400> 6
 ggagtgcgtg cgacgtgcc ttgccccgt gccccgctcc gccgccgct cgccgccccc 60
 gccccggctc tgactgaccg cgttactccc acaggtgagc gggcgggacg gcccttctcc 120
 ttcgggctgt aattagcgt tggtttaatg acggcttgtt tctttctgt ggctgcgtga 180
 aagccttgag gggctccggg agggcccttt gtgcgggggg agcggctcgg ggctgtccgc 240
 ggggggacgg ctgccttcgg gggggacggg gcagggcggg gttcggcttc tggcgtgtga 300
 ccggcggctc tagagcctct gctaaccatg tcatgcott cttcttttcc ctacagctcc 360
 tgggcaacgt gctggttatt gtgctgtctc atcattttgg caaagaattg gatcggaccg 420
 aaattaatac gactcactat aggggaattg tgagcggata acaattcccc ggagttaatc 480
 cgggaccttt aattcaacc aacacaatat attatagtta aataagaatt attatcaaat 540
 ctttgtata ttaattaa tactatactg taaattacat tttatttaca atcaaaggag 600
 atataccatg caatttcaac tgaccctttt tttgcacctt ggggtggctca gttactcaaa 660
 agctcaagat gactgcaaca ggggtgcctg tcatcccacc actggtgatc tcctggtggg 720
 caggaacacg cagcttatgg cttcttctac ctgtgggctg agcagagccc agaataactg 780
 catcctcagt tacctggagg gggaacaaaa atgcttcato tgtgactcta gatttcata 840

tgatccgtat gaccaacca acagccacac cattgagaat gtcattgtaa gttttgaacc	900
agacagagaa aagaaatggt ggcaatctga aaatggtctt gatcatgtca gcatcagact	960
ggacttagag gcattatttc gtttcagcca ccttatcctg accttaaga cttttcggcc	1020
tgctgcaatg ttagttgaac gttccacaga ctatggacac aactggaaag tgttcaaata	1080
ttttgcaaaa gactgtgcca cttoctttcc taacatcaca tctggccagg cccagggagt	1140
gggagacatt gtttgtgact ccaaatactc ggatattgaa ccctcaacag gtggagaggt	1200
gtttttaaaa gttttggatc ccagttttga aattgaaaac ccttatagcc cctacatcca	1260
agaccttggt acattgacaa acctgaggat aaactttacc aagctccaca cccttgggga	1320
tgctttgctt ggaaggaggc aaaatgattc ccttgataaa tactactatg ctctgtacga	1380
gatgattggt cggggaagct gcttttgcaa tggccatgct agcgaatgtc gccctatgca	1440
gaagatgagg ggagatgttt tcagccctcc tggaaatggt caccgctcagt gtgtgtgtca	1500
gcacaataca gatggtccga actgtgagag atgcaaggac ttcttccagg atgctccttg	1560
gaggccagct gcagacctcc aggacaacgc ttgcagatcg tgcagctgta acagccactc	1620
cagccgctgt cactttgaca tgactacgta cctggcaagc ggtggcctca gcgggggcgt	1680
gtgtgaagac tgccagcaca aactgaggg gcagcactgc gaccgctgca gaccctctt	1740
ctacagggac ccgctcaaga ccatctcaga tccctacgog tgcattoctt gtgaatgtga	1800
ccccgatggg accatatctg gtggcatttg tgtgagccac tctgatcctg ccttagggtc	1860
tgttgctggc cagtgccttt gtaaagagaa cgtggaagga gccaaatgcg accagtgcaa	1920
acccaaccac tatggactaa gcgccaccga ccccctgggc tgccagccct gcgactgtaa	1980
cccccttggg agtctgocat tcttgacctg tgatgtggat acaggccaat gcttgtgcct	2040
gtcatatgtc accggagcac actgcgaaga atgcactgtt ggatactggg gcctgggaaa	2100
tcatctccat ggggtttctc cctgtgactg tgatattgga ggtgcttatt ctaacgtgtg	2160
ctcacccaag aatgggcagt gigaatgccg cccacatgto actggccgta gctgctctga	2220
accagcccct ggctaacttct ttgctccttt gaatttctat ctctacgagg cagaggaagc	2280
cacaacactc caaggactgg cgcctttggg ctcggagacg tttggccaga gtctgtctgt	2340

tcacgttggt ttaggagagc cagttcctgg gaaccctggt acatggactg gacctggatt	2400
tgccagggtt ctccctgggg ctggcttgag atttgctgtc aacaacattc ctttcctgt	2460
ggacttcacc attgccattc actatgaaac ccagtctgca gctgactgga ctgtccagat	2520
tgtggtgaac ccccctggag ggagttagca ctgcataccc aagactctac agtcaaagcc	2580
tcagtctttt gccttaccag cggctacgag aatcatgctg cttcccacac ccatctgttt	2640
agaaccagat gtacaatatt ccatagatgt ctatTTTTct cagcctttgc aaggagagtc	2700
ccacgctcat tcacatgtcc tggtgactc tcttggcctt attccccaaa tcaattcatt	2760
ggagaatttc tgcagcaagc aggacttaga tgagtatcag cttcacaact gtgttgaat	2820
tgccctcagca atgggacctc aagtgtctcc ggggtcctgt gaaaggctga tcatcagcat	2880
gtctgccaag ctgcatgatg gggctgtggc ctgcaagtgt caccocagg gctcagtcgg	2940
atccagctgc agccgacttg gaggccagt cagtgtaaa cctcttgtgg tcgggcgctg	3000
ctgtgacagg tgctcaactg gaagctatga tttggggcat cacggctgtc acccatgtca	3060
ctgccatcct caaggatcaa aggacactgt atgtgacc aa gtacaggac agtgcccctg	3120
ccatggagag gtgtctggcc gccgctgtga tcgctgcctg gcaggctact ttggatttcc	3180
cagctgccac ccttgcctt gtaataggtt tgctgaactt tgtgatcctg agacagggtc	3240
atgcttcaat tgtggaggct ttacaactgg cagaaactgt gaaagggtga ttgatggtta	3300
ctatggaat ccttcttcag gacagccctg tcgtccttgc ctgtgtccag atgatccctc	3360
aagcaatcag tattttgccc attoctgtta tcagaatctg tggagctcag atgtaatctg	3420
caattgtctt caaggttata cgggtactca gtgtggagaa tgctctactg gttctatgg	3480
aatccaaga atttcaggag caccttgcca accatgtgcc tgcaacaaca acatagatgt	3540
aaccgatcca gagtccctgca gccgggtaac aggggagtgc cttcagatgt tgcacaacac	3600
tcagggcgca aactgccagc tctgcaaacc aggtcactat ggatcagccc tcaatcagac	3660
ctgcagaaga tgctcctgcc atgcttccgg cgtgagtccc atggagtgtc cccctggtgg	3720
gggagcttgc ctctgtgacc ctgtcactgg tgcatgtcct tgtctgccga atgtcacagg	3780
cctggcctgt gaccgttgtg ctgatggata ctggaatctg gtccctggca gaggatgtca	3840
gtcatgtgac tgtgacccta ggacctctca aagtagccac tgtgaccagc ttacaggcca	3900

gtgtccgtgt aaattaggtt acggcgggaa acgttgacgt gagtgccagg aaaattatta	3960
tggtgatcca cctgggogat gcattccatg tgattgtaac agggcaggta cccagaagcc	4020
catctgtgat ccagacacag gcatgtgccg ctgccgggag ggtgtcagcg gccagagatg	4080
tgatcgctgt gcccggggac acagccagga attccctact tgtcttcaat gtcacttgtg	4140
ctttgatcag tgggaccaca ccatttcttc cctctccaaa gcggtgcaag ggtaaatgag	4200
actggctgct aacatggaag ataaaagaga gaccctgcct gtctgtgagg cagacttcaa	4260
agacctcaga gggaacgtgt ctgaaataga aaggattttg aaacatcctg ttttccatc	4320
tgggaaattc ttaaaagtca aggattatca tgactctggt agaagacaaa tcatgcagct	4380
aatgaacaa ctgaaagcag tgtatgaatt tcaagatctg aaagatacaa tagaaagagc	4440
aaagaatgaa gcagacctct tacttgaaga ccttcaggaa gaaattgatt tgcaatccag	4500
tgtccttaat gcaagcattg cggactcctc agaaaacatc aagaaatatt atcacatatc	4560
atcatctgct gaaaagaaaa ttaatgaaac tagttccacc attaatacct ctgcaaatac	4620
aaggaatgac ttacttacca tcttagatac actaacctca aaaggaaact tgtcattgga	4680
aagattaaag cagattaaga taccagatat ccaaatattg aatgaaaagg tgtgoggaga	4740
tccaggaaat gtgccatgtg tgcccctgcc ctgtggcggg gctctctgca cgggccggaa	4800
ggggcacagg aagtgtaggg gtcccggctg tcacggctcc ctgaccctct caacgaatgc	4860
cctccaaaaa gcccaggaag caaaatccat tattcgtaat ttggacaaa acagttcgtgg	4920
gttgaaaaat cagatcgaag gtataagtga acaggcagaa gtctccaaaa acaatgcctt	4980
acagctgagg gaaaaactgg gaaatataag aaaccaaagt gactctgaag aagaaaaacat	5040
caatcttttc atcaaaaaag tgaaaaactt tttgttagag gaaaacgtgc ctccagaaga	5100
catcgagaag gttgcgaatg gtgtgcttga cattcaccta ccaattccat cccaaaatct	5160
aaccgatgaa cttgtcaaaa tacagaaaca tatgcaactc tgtgaggatt acaggacaga	5220
tgaaaacagg ttaaatgaag aagcagatgg agcccaaaag cttttggtga aggccaaagc	5280
agctgagaaa gcagcaaata ttctattaaa tcttgacaaa acattgaacc agttacaaca	5340
agctcaaatc actcaaggac gggcaaacctc taccattaca cagctgactg ccaatataac	5400

aaaaataaaa aagaatgtgc tgcaggctga aaatcaaacc agggaaatga agagtgagct	5460
ggagttagca aagcagcgat cagggctgga ggatggactt tccctgctgc agaccaagtt	5520
gcaaaggcat caagaccacg ctgtcaatgc gaaagttcag gctgaaatctg cccaacacca	5580
ggctgggagt cttgagaagg aatttgttga gctgaaaaaa caatatgcta ttctccaacg	5640
taagacaagc actacaggac taacaaagga gacattagga aaagttaaac agctaaaaga	5700
tgcggcagaa aaattggctg gagatacaga ggccaagata agaagaataa cagatttaga	5760
aaggaaaatc caagatttga atctaagtag acaagcaaaa gctgatcaac tgagaatatt	5820
ggaagatcaa gttgttgcca ttaaaaatga aattgttgaa caagaaaaaa aatatgctag	5880
gtgctatagc tagctcgagc accaccatca ccatcaccat cactaagtga ttaacctcag	5940
gtgcaggctg cctatcagaa ggtggtggct ggtgtggcca atgccctggc tcacaaatac	6000
cactgagatc gatctttttc cctctgccaa aaattatggg gacatcatga agccccttga	6060
gcatctgact tctggctaataa aaaggaaatt tattttcatt gcaatagtgt gttggaattt	6120
tttgtgtctc tcactcggaag gagacatatgg gagggcaaat catttaaac atcagaatga	6180
gtatttgggt tagagtttgg caacatatgc ccatatgtaa ctagcataac cccttggggc	6240
ctctaaacgg gtcttgaggg gttttttgct gaaagcatgc ggaggaaatt ctcttgaag	6300
ttccctgggt gttcaaagta aaggagtttg caccagacgc acctctgttc actggtccgg	6360
cgtattaaaa cacgatacat tgttattagt acatttatta agcgctagat tctgtgcggt	6420
gttgatttac agacaattgt tgtacgtatt ttaataatc attaaattta taatctttag	6480
ggtggtatgt tagagcgaag atcaaatgat tttcagcgtc tttatatctg aatttaata	6540
ttaaatacctc aatagatttg taaaataggt ttcgattagt ttcaacaag gttgttttt	6600
ccgaaccgat ggctggacta tctaattggat tttcgctcaa cgccacaaaa cttgccaat	6660
cttgtagcag caatctagct ttgtcgatat tcgtttgtgt tttgtttgt aataaaggtt	6720
cgacgtcggt caaaatatta tgcgcttttg tatttcttc atcactgtcg ttagtgtaca	6780
attgactcga cgtaaacacg ttaaataagag cttggacata ttaacatcg ggcgtgttag	6840
ctttattagg ccgattatcg tcgtcgtccc aaccctcgtc gttagaagtt gcttccgaag	6900
acgattttgc catagccaca cgaocctat taattgtgtc ggctaacacg tcccgatca	6960

aattttagt tgagctttt ggaattattt ctgattgcgg gcgtttttgg gcgggtttca	7020
atctaactgt gcccgatttt aattcagaca acacgttaga aagcgatggt gcaggcgggtg	7080
gtaacatttc agacggcaaa tctactaatg gcggcgggtg tggagctgat gataaatcta	7140
ccatcgggtg aggcgcaggc ggggctggcg gcggaggcgg aggcggaggt gttggcgggtg	7200
atgcagacgg cggtttaggc tcaaatgtct ctttaggcaa cacagtcggc acctcaacta	7260
ttgtactggt ttcgggcgcc gtttttggtt tgaccggtct gagacgagtg cgatTTTTTT	7320
cgtttctaata agcttccaac aattgttctc tgtcgtctaa aggtgcagcg gttgaggtt	7380
ccgtcggcat tgggtggagcg ggcggcaatt cagacatcga tgggtgggtt gttgggtggag	7440
gcgctggaat gttaggcacg ggagaaggct gtggcggcgg tgccgccggt ataatttgtt	7500
ctggttttagt ttgttcgccc acgattgtgg gcaccggcgc aggcgccgct ggctgcacaa	7560
cggaaggctg tctgcttcga ggcagcgcct ggggtgggtg caattcaata ttataattgg	7620
aatacaaatc gtaaaaatct gctataagca ttgtaatttc gctatcgttt accgtgccga	7680
tatttaacaa ccgctcaatg taagcaattg tattgtaaag agattgtctc aagctcggaa	7740
cgctgcgctc ggtcgttcgg ctgoggcgag cggtatcagc tcaactcaaag gcgtaatac	7800
ggttatccac agaatcaggg gataacgcag gaaagaacat gtgagcaaaa ggccagcaaa	7860
aggccaggaa ccgtaaaaag gccgcgttgc tggcgttttt ccataggctc cgccccctg	7920
acgagcatca caaaaatcga cgctcaagtc agaggtggcg aaaccgcaca ggactataaa	7980
gataccaggc gtttccccct ggaagctccc tcgtgcgctc tcctgttccg acctgccgc	8040
ttaccggata cctgtccgcc tttctccctt cgggaagcgt ggcgctttct caatgctcac	8100
gctgtaggta tctcagttcg gtgtaggtcg ttcgctccaa gctgggctgt gtgcacgaac	8160
ccccgttca gcccgaccgc tgcgccttat ccgtaacta tcgtcttgag tccaaccgg	8220
taagacacga cttatcgcca ctggcagcag ccaactgtaa caggattagc agagcgggt	8280
atgtaggcgg tgctacagag ttcttgaagt ggtggcctaa ctacggctac actagaagga	8340
cagtatttgg tatctgcgct ctgctgaagc cagttacctt cggaaaaaga gttgtagct	8400
cttgatccgg caaacaacc accgctggta gcggtggttt tttgtttgc aagcagcaga	8460

ttacgcgcag aaaaaaagga tctcaagaag atcctttgtt accaatgctt aatcagtgag	8520
gcacctatct cagcgatctg tctatcttctg tcatccatag ttgcctgact ccccgctgtg	8580
tagataacta cgatacggga gggcttacca tctggcccca gtgctgcaat gataccgcga	8640
gaccacgct caccggctcc agatttatca gcaataaacc agccagccgg aaggccgag	8700
cgcagaagtg gtcttgaac tttatccgcc tccatccagt ctattaattg ttgccgggaa	8760
gctagagtaa gtagttgcc agttaatagt ttgcgcaacg ttgttgccat tgctacaggc	8820
atcgtgggtg cacgctcgtc gtttggatg gcttcattca gctccggtc ccaacgatca	8880
aggcgagtta catgatcccc catgtttgtc aaaaaagcgg ttagctcctt cggtcctccg	8940
atcgttgca gaagtaagt ggccgcagtg ttatcactca tggttatggc agcactgcat	9000
aattctctta ctgtcatgcc atccgtaaga tgcttttctg tgactgggga gtactcaacc	9060
aagtcatctt gagaatagt tatgcggcga ccgagttgct cttgcccggc gtcaatacgg	9120
gataataccg cgccacatag cagaacttta aaagtgtca tcattggaaa acgttcttcg	9180
ggcgaaaaac tctcaaggat ctaccgctg ttgagatcca gttcgatgta acccactcgt	9240
gcacccaact gatcttcagc atcttttact ttcaccagcg tttctgggtg agcaaaaaca	9300
ggaaggcaaa atgccgcaaa aaagggaata agggcgacac ggaaatgttg aatactcata	9360
ctcttccttt ttcaatatta ttgaagcatt tatcagggtt attgtctcat gtccgcgct	9420
ttctgcatc ttttaatcaa atcccaagat gtgtataaac caccaactg ccaaaaaatg	9480
aaaactgtcg acaagctctg tccgtttgct ggcaactgca aggtctcaa tcctatttgt	9540
aattattgaa taataaaaca attataaatg tcaaatttgt tttttattaa cgatacaaac	9600
caaacgcaac aagaacattt gtagtattat ctataattga aaacgcgtag ttataatcgc	9660
tgaggtaata tttaaaatca ttttcaaatg attcacagtt aatttgcgac aatataattt	9720
tattttcaca taaactagac gccttgtcgt cttcttcttc gtattccttc tctttttcat	9780
ttttctcttc ataaaaatta acatagttat tatcgtatcc atatatgtat ctatcgtata	9840
gagtaaattt tttgttgca taaatatata tgtctttttt aatggggtgt atagtaccgc	9900
tgcgcatagt tttctgtaa tttacaacag tgctatttct tggtagttct tcggagtgtg	9960
ttgctttaat tattaaattt atataatcaa tgaatttggg atcgtcgggt ttgtacaata	10020

tgttgccggc atagtaogca gcttcttcta gttcaattac accatttttt agcagcaccg 10080
 gattaacata actttccaaa atgttgtagc aaccgttaaa caaaaacagt tcacctcct 10140
 tttctatact attgtctgcg agcagttggt tgttgtaaa aataacagcc attgtaatga 10200
 gagcacaaaa ctaatatcac aaactggaaa tgtctatcaa tatatagttg ctctagttat 10260
 taatagtaat caattacggg gtcattagtt catagcccat atatggagtt ccgcgttaca 10320
 taacttaagg taaatggccc gcctggctga ccgcccaacg acccccggcc attgacgtca 10380
 ataatgacgt atgttcccat agtaacgcca atagggactt tccattgacg tcaatgggtg 10440
 gactatttac ggtaaactgc ccacttgcca gtacatcaag tgtatcatat gccaaagtacg 10500
 ccccctattg acgtcaatga cggtaaatgg cccgcctggc attatgcca gtacatgacc 10560
 ttatgggact ttctacttg gcagtacatc tacgtattag tcatcgctat taccatgcat 10620
 ggtcgagggtg agccccacgt tctgcttcac tctccccatc tccccccct ccccacccc 10680
 aattttgtat ttatttttt ttttaattatt ttgtgcagcg atgggggcgg gggggggggg 10740
 ggggcgcgcg ccaggcgggg cggggcgggg cgaggggcgg ggcggggcga ggcggagagg 10800
 tgcggcggca gccaatcaga gcggcgcgct ccgaaagttt ccttttatgg cgaggcggcg 10860
 gcggcggcgg ccctataaaa agcgaagcgc gcggcgggcg 10900

<210> 7
 <211> 1771
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> LAMB4-His

<400> 7

Met Gln Phe Gln Leu Thr Leu Phe Leu His Leu Gly Trp Leu Ser Tyr
 1 5 10 15

Ser Lys Ala Gln Asp Asp Cys Asn Arg Gly Ala Cys His Pro Thr Thr
 20 25 30

Gly Asp Leu Leu Val Gly Arg Asn Thr Gln Leu Met Ala Ser Ser Thr

Leu Gly Arg Arg Gln Asn Asp Ser Leu Asp Lys Tyr Tyr Tyr Ala Leu
245 250 255

Tyr Glu Met Ile Val Arg Gly Ser Cys Phe Cys Asn Gly His Ala Ser
260 265 270

Glu Cys Arg Pro Met Gln Lys Met Arg Gly Asp Val Phe Ser Pro Pro
275 280 285

Gly Met Val His Gly Gln Cys Val Cys Gln His Asn Thr Asp Gly Pro
290 295 300

Asn Cys Glu Arg Cys Lys Asp Phe Phe Gln Asp Ala Pro Trp Arg Pro
305 310 315 320

Ala Ala Asp Leu Gln Asp Asn Ala Cys Arg Ser Cys Ser Cys Asn Ser
325 330 335

His Ser Ser Arg Cys His Phe Asp Met Thr Thr Tyr Leu Ala Ser Gly
340 345 350

Gly Leu Ser Gly Gly Val Cys Glu Asp Cys Gln His Asn Thr Glu Gly
355 360 365

Gln His Cys Asp Arg Cys Arg Pro Leu Phe Tyr Arg Asp Pro Leu Lys
370 375 380

Thr Ile Ser Asp Pro Tyr Ala Cys Ile Pro Cys Glu Cys Asp Pro Asp
385 390 395 400

Gly Thr Ile Ser Gly Gly Ile Cys Val Ser His Ser Asp Pro Ala Leu
405 410 415

Gly Ser Val Ala Gly Gln Cys Leu Cys Lys Glu Asn Val Glu Gly Ala
420 425 430

Lys Cys Asp Gln Cys Lys Pro Asn His Tyr Gly Leu Ser Ala Thr Asp
435 440 445

Pro Leu Gly Cys Gln Pro Cys Asp Cys Asn Pro Leu Gly Ser Leu Pro
450 455 460

Phe Leu Thr Cys Asp Val Asp Thr Gly Gln Cys Leu Cys Leu Ser Tyr
465 470 475 480

Val Thr Gly Ala His Cys Glu Glu Cys Thr Val Gly Tyr Trp Gly Leu
485 490 495

Gly Asn His Leu His Gly Cys Ser Pro Cys Asp Cys Asp Ile Gly Gly
500 505 510

Ala Tyr Ser Asn Val Cys Ser Pro Lys Asn Gly Gln Cys Glu Cys Arg
515 520 525

Pro His Val Thr Gly Arg Ser Cys Ser Glu Pro Ala Pro Gly Tyr Phe
530 535 540

Phe Ala Pro Leu Asn Phe Tyr Leu Tyr Glu Ala Glu Glu Ala Thr Thr
545 550 555 560

Leu Gln Gly Leu Ala Pro Leu Gly Ser Glu Thr Phe Gly Gln Ser Pro
565 570 575

Ala Val His Val Val Leu Gly Glu Pro Val Pro Gly Asn Pro Val Thr
580 585 590

Trp Thr Gly Pro Gly Phe Ala Arg Val Leu Pro Gly Ala Gly Leu Arg
595 600 605

Phe Ala Val Asn Asn Ile Pro Phe Pro Val Asp Phe Thr Ile Ala Ile
610 615 620

His Tyr Glu Thr Gln Ser Ala Ala Asp Trp Thr Val Gln Ile Val Val
625 630 635 640

Asn Pro Pro Gly Gly Ser Glu His Cys Ile Pro Lys Thr Leu Gln Ser
645 650 655

Lys Pro Gln Ser Phe Ala Leu Pro Ala Ala Thr Arg Ile Met Leu Leu
660 665 670

Pro Thr Pro Ile Cys Leu Glu Pro Asp Val Gln Tyr Ser Ile Asp Val
675 680 685

Tyr Phe Ser Gln Pro Leu Gln Gly Glu Ser His Ala His Ser His Val
690 695 700

Leu Val Asp Ser Leu Gly Leu Ile Pro Gln Ile Asn Ser Leu Glu Asn
705 710 715 720

Phe Cys Ser Lys Gln Asp Leu Asp Glu Tyr Gln Leu His Asn Cys Val
725 730 735

Glu Ile Ala Ser Ala Met Gly Pro Gln Val Leu Pro Gly Ala Cys Glu
740 745 750

Arg Leu Ile Ile Ser Met Ser Ala Lys Leu His Asp Gly Ala Val Ala
755 760 765

Cys Lys Cys His Pro Gln Gly Ser Val Gly Ser Ser Cys Ser Arg Leu
770 775 780

Gly Gly Gln Cys Gln Cys Lys Pro Leu Val Val Gly Arg Cys Cys Asp
785 790 795 800

Arg Cys Ser Thr Gly Ser Tyr Asp Leu Gly His His Gly Cys His Pro
805 810 815

Cys His Cys His Pro Gln Gly Ser Lys Asp Thr Val Cys Asp Gln Val
820 825 830

Thr Gly Gln Cys Pro Cys His Gly Glu Val Ser Gly Arg Arg Cys Asp
835 840 845

Arg Cys Leu Ala Gly Tyr Phe Gly Phe Pro Ser Cys His Pro Cys Pro

Pro Asn Val Thr Gly Leu Ala Cys Asp Arg Cys Ala Asp Gly Tyr
1055 1060 1065

Trp Asn Leu Val Pro Gly Arg Gly Cys Gln Ser Cys Asp Cys Asp
1070 1075 1080

Pro Arg Thr Ser Gln Ser Ser His Cys Asp Gln Leu Thr Gly Gln
1085 1090 1095

Cys Pro Cys Lys Leu Gly Tyr Gly Gly Lys Arg Cys Ser Glu Cys
1100 1105 1110

Gln Glu Asn Tyr Tyr Gly Asp Pro Pro Gly Arg Cys Ile Pro Cys
1115 1120 1125

Asp Cys Asn Arg Ala Gly Thr Gln Lys Pro Ile Cys Asp Pro Asp
1130 1135 1140

Thr Gly Met Cys Arg Cys Arg Glu Gly Val Ser Gly Gln Arg Cys
1145 1150 1155

Asp Arg Cys Ala Arg Gly His Ser Gln Glu Phe Pro Thr Cys Leu
1160 1165 1170

Gln Cys His Leu Cys Phe Asp Gln Trp Asp His Thr Ile Ser Ser
1175 1180 1185

Leu Ser Lys Ala Val Gln Gly Leu Met Arg Leu Ala Ala Asn Met
1190 1195 1200

Glu Asp Lys Arg Glu Thr Leu Pro Val Cys Glu Ala Asp Phe Lys
1205 1210 1215

Asp Leu Arg Gly Asn Val Ser Glu Ile Glu Arg Ile Leu Lys His
1220 1225 1230

Pro Val Phe Pro Ser Gly Lys Phe Leu Lys Val Lys Asp Tyr His
1235 1240 1245

Asp Ser Val Arg Arg Gln Ile Met Gln Leu Asn Glu Gln Leu Lys
1250 1255 1260

Ala Val Tyr Glu Phe Gln Asp Leu Lys Asp Thr Ile Glu Arg Ala
1265 1270 1275

Lys Asn Glu Ala Asp Leu Leu Leu Glu Asp Leu Gln Glu Glu Ile
1280 1285 1290

Asp Leu Gln Ser Ser Val Leu Asn Ala Ser Ile Ala Asp Ser Ser
1295 1300 1305

Glu Asn Ile Lys Lys Tyr Tyr His Ile Ser Ser Ser Ala Glu Lys
1310 1315 1320

Lys Ile Asn Glu Thr Ser Ser Thr Ile Asn Thr Ser Ala Asn Thr
1325 1330 1335

Arg Asn Asp Leu Leu Thr Ile Leu Asp Thr Leu Thr Ser Lys Gly
1340 1345 1350

Asn Leu Ser Leu Glu Arg Leu Lys Gln Ile Lys Ile Pro Asp Ile
1355 1360 1365

Gln Ile Leu Asn Glu Lys Val Cys Gly Asp Pro Gly Asn Val Pro
1370 1375 1380

Cys Val Pro Leu Pro Cys Gly Gly Ala Leu Cys Thr Gly Arg Lys
1385 1390 1395

Gly His Arg Lys Cys Arg Gly Pro Gly Cys His Gly Ser Leu Thr
1400 1405 1410

Leu Ser Thr Asn Ala Leu Gln Lys Ala Gln Glu Ala Lys Ser Ile
1415 1420 1425

Ile Arg Asn Leu Asp Lys Gln Val Arg Gly Leu Lys Asn Gln Ile
1430 1435 1440

Glu Ser Ile Ser Glu Gln Ala Glu Val Ser Lys Asn Asn Ala Leu
1445 1450 1455

Gln Leu Arg Glu Lys Leu Gly Asn Ile Arg Asn Gln Ser Asp Ser
1460 1465 1470

Glu Glu Glu Asn Ile Asn Leu Phe Ile Lys Lys Val Lys Asn Phe
1475 1480 1485

Leu Leu Glu Glu Asn Val Pro Pro Glu Asp Ile Glu Lys Val Ala
1490 1495 1500

Asn Gly Val Leu Asp Ile His Leu Pro Ile Pro Ser Gln Asn Leu
1505 1510 1515

Thr Asp Glu Leu Val Lys Ile Gln Lys His Met Gln Leu Cys Glu
1520 1525 1530

Asp Tyr Arg Thr Asp Glu Asn Arg Leu Asn Glu Glu Ala Asp Gly
1535 1540 1545

Ala Gln Lys Leu Leu Val Lys Ala Lys Ala Ala Glu Lys Ala Ala
1550 1555 1560

Asn Ile Leu Leu Asn Leu Asp Lys Thr Leu Asn Gln Leu Gln Gln
1565 1570 1575

Ala Gln Ile Thr Gln Gly Arg Ala Asn Ser Thr Ile Thr Gln Leu
1580 1585 1590

Thr Ala Asn Ile Thr Lys Ile Lys Lys Asn Val Leu Gln Ala Glu
1595 1600 1605

Asn Gln Thr Arg Glu Met Lys Ser Glu Leu Glu Leu Ala Lys Gln
1610 1615 1620

Arg Ser Gly Leu Glu Asp Gly Leu Ser Leu Leu Gln Thr Lys Leu

1625		1630		1635
Gln Arg His Gln Asp His Ala Val Asn Ala Lys Val Gln Ala Glu				
1640		1645		1650
Ser Ala Gln His Gln Ala Gly Ser Leu Glu Lys Glu Phe Val Glu				
1655		1660		1665
Leu Lys Lys Gln Tyr Ala Ile Leu Gln Arg Lys Thr Ser Thr Thr				
1670		1675		1680
Gly Leu Thr Lys Glu Thr Leu Gly Lys Val Lys Gln Leu Lys Asp				
1685		1690		1695
Ala Ala Glu Lys Leu Ala Gly Asp Thr Glu Ala Lys Ile Arg Arg				
1700		1705		1710
Ile Thr Asp Leu Glu Arg Lys Ile Gln Asp Leu Asn Leu Ser Arg				
1715		1720		1725
Gln Ala Lys Ala Asp Gln Leu Arg Ile Leu Glu Asp Gln Val Val				
1730		1735		1740
Ala Ile Lys Asn Glu Ile Val Glu Gln Glu Lys Lys Tyr Ala Arg				
1745		1750		1755
Cys Tyr Ser Leu Glu His His His His His His His His				
1760		1765		1770

<210> 8
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

 <220>
 <223> Autoantik - per Epitop 1

 <400> 8

 Glu Phe Gln Asp Leu
 1 5

<210> 9
<211> 10
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Autoantik · per-Epitop 2

<400> 9

Ala Asp Leu Leu Leu Glu Asp Leu Gln Glu
1 5 10

<210> 10
<211> 16
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Autoantik · per-Epitop 3

<400> 10

Ala Asp Leu Leu Leu Glu Asp Leu Gln Glu Glu Ile Asp Leu Gln Ser
1 5 10 15

<210> 11
<211> 12
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Autoantik · per-Epitop 4

<400> 11

Asp Leu Leu Thr Ile Leu Asp Thr Leu Thr Ser Lys
1 5 10

<210> 12
<211> 13
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Autoantik · per-Epitop 5

<400> 12

Gln Ile Lys Ile Pro Asp Ile Gln Ile Leu Asn Glu Lys
1 5 10

<210> 13

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Autoantik · per-Epitop 6

<400> 13

Val Arg Gly Leu Lys Asn Gln Ile Glu Ser Ile Ser Glu
1 5 10

<210> 14

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Autoantik · per-Epitop 7

<400> 14

Leu Leu Glu Glu Asn Val Pro Pro Glu Asp Ile
1 5 10

<210> 15

<211> 300

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Teilfragment 1

<400> 15

Met Gln Asp Asp Cys Asn Arg Gly Ala Cys His Pro Thr Thr Gly Asp
1 5 10 15

Leu Leu Val Gly Arg Asn Thr Gln Leu Met Ala Ser Ser Thr Cys Gly
20 25 30

Leu Ser Arg Ala Gln Lys Tyr Cys Ile Leu Ser Tyr Leu Glu Gly Glu
35 40 45

Gln Lys Cys Phe Ile Cys Asp Ser Arg Phe Pro Tyr Asp Pro Tyr Asp
50 55 60

Gln Pro Asn Ser His Thr Ile Glu Asn Val Ile Val Ser Phe Glu Pro
65 70 75 80

Asp Arg Glu Lys Lys Trp Trp Gln Ser Glu Asn Gly Leu Asp His Val
85 90 95

Ser Ile Arg Leu Asp Leu Glu Ala Leu Phe Arg Phe Ser His Leu Ile
100 105 110

Leu Thr Phe Lys Thr Phe Arg Pro Ala Ala Met Leu Val Glu Arg Ser
115 120 125

Thr Asp Tyr Gly His Asn Trp Lys Val Phe Lys Tyr Phe Ala Lys Asp
130 135 140

Cys Ala Thr Ser Phe Pro Asn Ile Thr Ser Gly Gln Ala Gln Gly Val
145 150 155 160

Gly Asp Ile Val Cys Asp Ser Lys Tyr Ser Asp Ile Glu Pro Ser Thr
165 170 175

Gly Gly Glu Val Val Leu Lys Val Leu Asp Pro Ser Phe Glu Ile Glu
180 185 190

Asn Pro Tyr Ser Pro Tyr Ile Gln Asp Leu Val Thr Leu Thr Asn Leu
195 200 205

Arg Ile Asn Phe Thr Lys Leu His Thr Leu Gly Asp Ala Leu Leu Gly
210 215 220

Arg Arg Gln Asn Asp Ser Leu Asp Lys Tyr Tyr Tyr Ala Leu Tyr Glu

Pro Asp Gly Thr Ile Ser Gly Gly Ile Cys Val Ser His Ser Asp Pro
100 105 110

Ala Leu Gly Ser Val Ala Gly Gln Cys Leu Cys Lys Glu Asn Val Glu
115 120 125

Gly Ala Lys Cys Asp Gln Cys Lys Pro Asn His Tyr Gly Leu Ser Ala
130 135 140

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

Leu Pro Phe Leu Thr Cys Asp Val Asp Thr Gly Gln Cys Leu Cys Leu
165 170 175

Ser Tyr Val Thr Gly Ala His Cys Glu Glu Cys Thr Val Gly Tyr Trp
180 185 190

Gly Leu Gly Asn His Leu His Gly Cys Ser Pro Cys Asp Cys Asp Ile
195 200 205

Gly Gly Ala Tyr Ser Asn Val Cys Ser Pro Lys Asn Gly Gln Cys Glu
210 215 220

Cys Arg Pro His Val Thr Gly Arg Ser Cys Ser Glu Pro Ala Pro Gly
225 230 235 240

Tyr Phe Phe Ala Pro Leu Asn Phe Tyr Leu Tyr Glu Ala Glu Glu Ala
245 250 255

Thr Thr Leu Gln Gly Leu Ala Pro Leu Gly Ser Glu Thr Phe Gly Gln
260 265 270

Ser Pro Ala Val His Val Val Leu Gly Glu Pro Val Pro Gly Asn Pro
275 280 285

Val Thr Trp Thr Gly Pro Gly Phe Ala Arg Val Leu Trp

290

295

300

<210> 17
<211> 318
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Teilfragment 3

<400> 17

Met Gly Asn Pro Val Thr Trp Thr Gly Pro Gly Phe Ala Arg Val Leu
1 5 10 15

Pro Gly Ala Gly Leu Arg Phe Ala Val Asn Asn Ile Pro Phe Pro Val
20 25 30

Asp Phe Thr Ile Ala Ile His Tyr Glu Thr Gln Ser Ala Ala Asp Trp
35 40 45

Thr Val Gln Ile Val Val Asn Pro Pro Gly Gly Ser Glu His Cys Ile
50 55 60

Pro Lys Thr Leu Gln Ser Lys Pro Gln Ser Phe Ala Leu Pro Ala Ala
65 70 75 80

Thr Arg Ile Met Leu Leu Pro Thr Pro Ile Cys Leu Glu Pro Asp Val
85 90 95

Gln Tyr Ser Ile Asp Val Tyr Phe Ser Gln Pro Leu Gln Gly Glu Ser
100 105 110

His Ala His Ser His Val Leu Val Asp Ser Leu Gly Leu Ile Pro Gln
115 120 125

Ile Asn Ser Leu Glu Asn Phe Cys Ser Lys Gln Asp Leu Asp Glu Tyr
130 135 140

Gln Leu His Asn Cys Val Glu Ile Ala Ser Ala Met Gly Pro Gln Val
145 150 155 160

Leu Pro Gly Ala Cys Glu Arg Leu Ile Ile Ser Met Ser Ala Lys Leu
165 170 175

His Asp Gly Ala Val Ala Cys Lys Cys His Pro Gln Gly Ser Val Gly
180 185 190

Ser Ser Cys Ser Arg Leu Gly Gly Gln Cys Gln Cys Lys Pro Leu Val
195 200 205

Val Gly Arg Cys Cys Asp Arg Cys Ser Thr Gly Ser Tyr Asp Leu Gly
210 215 220

His His Gly Cys His Pro Cys His Cys His Pro Gln Gly Ser Lys Asp
225 230 235 240

Thr Val Cys Asp Gln Val Thr Gly Gln Cys Pro Cys His Gly Glu Val
245 250 255

Ser Gly Arg Arg Cys Asp Arg Cys Leu Ala Gly Tyr Phe Gly Phe Pro
260 265 270

Ser Cys His Pro Cys Pro Cys Asn Arg Phe Ala Glu Leu Cys Asp Pro
275 280 285

Glu Thr Gly Ser Cys Phe Asn Cys Gly Gly Phe Thr Thr Gly Arg Asn
290 295 300

Cys Glu Arg Cys Ile Asp Gly Tyr Tyr Gly Asn Trp Gly Trp
305 310 315

<210> 18
<211> 286
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Teilfragment 4

<400> 18

Met Thr Gly Arg Asn Cys Glu Arg Cys Ile Asp Gly Tyr Tyr Gly Asn
1 5 10 15

Pro Ser Ser Gly Gln Pro Cys Arg Pro Cys Leu Cys Pro Asp Asp Pro
20 25 30

Ser Ser Asn Gln Tyr Phe Ala His Ser Cys Tyr Gln Asn Leu Trp Ser
35 40 45

Ser Asp Val Ile Cys Asn Cys Leu Gln Gly Tyr Thr Gly Thr Gln Cys
50 55 60

Gly Glu Cys Ser Thr Gly Phe Tyr Gly Asn Pro Arg Ile Ser Gly Ala
65 70 75 80

Pro Cys Gln Pro Cys Ala Cys Asn Asn Asn Ile Asp Val Thr Asp Pro
85 90 95

Glu Ser Cys Ser Arg Val Thr Gly Glu Cys Leu Arg Cys Leu His Asn
100 105 110

Thr Gln Gly Ala Asn Cys Gln Leu Cys Lys Pro Gly His Tyr Gly Ser
115 120 125

Ala Leu Asn Gln Thr Cys Arg Arg Cys Ser Cys His Ala Ser Gly Val
130 135 140

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

Val Thr Gly Ala Cys Pro Cys Leu Pro Asn Val Thr Gly Leu Ala Cys
165 170 175

Asp Arg Cys Ala Asp Gly Tyr Trp Asn Leu Val Pro Gly Arg Gly Cys
180 185 190

Gln Ser Cys Asp Cys Asp Pro Arg Thr Ser Gln Ser Ser His Cys Asp
195 200 205

Gln Leu Thr Gly Gln Cys Pro Cys Lys Leu Gly Tyr Gly Gly Lys Arg
210 215 220

Cys Ser Glu Cys Gln Glu Asn Tyr Tyr Gly Asp Pro Pro Gly Arg Cys
225 230 235 240

Ile Pro Cys Asp Cys Asn Arg Ala Gly Thr Gln Lys Pro Ile Cys Asp
245 250 255

Pro Asp Thr Gly Met Cys Arg Cys Arg Glu Gly Val Ser Gly Gln Arg
260 265 270

Cys Asp Arg Cys Ala Arg Gly His Ser Gln Glu Trp Gly Trp
275 280 285

<210> 19
<211> 320
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Teilfragment 5

<400> 19

Met Ser Gly Gln Arg Cys Asp Arg Cys Ala Arg Gly His Ser Gln Glu
1 5 10 15

Phe Pro Thr Cys Leu Gln Cys His Leu Cys Phe Asp Gln Trp Asp His
20 25 30

Thr Ile Ser Ser Leu Ser Lys Ala Val Gln Gly Leu Met Arg Leu Ala
35 40 45

Ala Asn Met Glu Asp Lys Arg Glu Thr Leu Pro Val Cys Glu Ala Asp
50 55 60

Phe Lys Asp Leu Arg Gly Asn Val Ser Glu Ile Glu Arg Ile Leu Lys
65 70 75 80

His Pro Val Phe Pro Ser Gly Lys Phe Leu Lys Val Lys Asp Tyr His
85 90 95

Asp Ser Val Arg Arg Gln Ile Met Gln Leu Asn Glu Gln Leu Lys Ala
100 105 110

Val Tyr Glu Phe Gln Asp Leu Lys Asp Thr Ile Glu Arg Ala Lys Asn
115 120 125

Glu Ala Asp Leu Leu Leu Glu Asp Leu Gln Glu Glu Ile Asp Leu Gln
130 135 140

Ser Ser Val Leu Asn Ala Ser Ile Ala Asp Ser Ser Glu Asn Ile Lys
145 150 155 160

Lys Tyr Tyr His Ile Ser Ser Ser Ala Glu Lys Lys Ile Asn Glu Thr
165 170 175

Ser Ser Thr Ile Asn Thr Ser Ala Asn Thr Arg Asn Asp Leu Leu Thr
180 185 190

Ile Leu Asp Thr Leu Thr Ser Lys Gly Asn Leu Ser Leu Glu Arg Leu
195 200 205

Lys Gln Ile Lys Ile Pro Asp Ile Gln Ile Leu Asn Glu Lys Val Cys
210 215 220

Gly Asp Pro Gly Asn Val Pro Cys Val Pro Leu Pro Cys Gly Gly Ala
225 230 235 240

Leu Cys Thr Gly Arg Lys Gly His Arg Lys Cys Arg Gly Pro Gly Cys
245 250 255

His Gly Ser Leu Thr Leu Ser Thr Asn Ala Leu Gln Lys Ala Gln Glu
260 265 270

Ala Lys Ser Ile Ile Arg Asn Leu Asp Lys Gln Val Arg Gly Leu Lys
275 280 285

Asn Gln Ile Glu Ser Ile Ser Glu Gln Ala Glu Val Ser Lys Asn Asn
290 295 300

Ala Leu Gln Leu Arg Glu Lys Leu Gly Asn Ile Trp Gly Trp Gly Trp
305 310 315 320

<210> 20
<211> 317
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Teilfragment 6

<400> 20

Met Ser Lys Asn Asn Ala Leu Gln Leu Arg Glu Lys Leu Gly Asn Ile
1 5 10 15

Arg Asn Gln Ser Asp Ser Glu Glu Glu Asn Ile Asn Leu Phe Ile Lys
20 25 30

Lys Val Lys Asn Phe Leu Leu Glu Glu Asn Val Pro Pro Glu Asp Ile
35 40 45

Glu Lys Val Ala Asn Gly Val Leu Asp Ile His Leu Pro Ile Pro Ser
50 55 60

Gln Asn Leu Thr Asp Glu Leu Val Lys Ile Gln Lys His Met Gln Leu
65 70 75 80

Cys Glu Asp Tyr Arg Thr Asp Glu Asn Arg Leu Asn Glu Glu Ala Asp
85 90 95

Gly Ala Gln Lys Leu Leu Val Lys Ala Lys Ala Ala Glu Lys Ala Ala
100 105 110

Asn Ile Leu Leu Asn Leu Asp Lys Thr Leu Asn Gln Leu Gln Gln Ala
115 120 125

Gln Ile Thr Gln Gly Arg Ala Asn Ser Thr Ile Thr Gln Leu Thr Ala
130 135 140

Asn Ile Thr Lys Ile Lys Lys Asn Val Leu Gln Ala Glu Asn Gln Thr
145 150 155 160

Arg Glu Met Lys Ser Glu Leu Glu Leu Ala Lys Gln Arg Ser Gly Leu
165 170 175

Glu Asp Gly Leu Ser Leu Leu Gln Thr Lys Leu Gln Arg His Gln Asp
180 185 190

His Ala Val Asn Ala Lys Val Gln Ala Glu Ser Ala Gln His Gln Ala
195 200 205

Gly Ser Leu Glu Lys Glu Phe Val Glu Leu Lys Lys Gln Tyr Ala Ile
210 215 220

Leu Gln Arg Lys Thr Ser Thr Thr Gly Leu Thr Lys Glu Thr Leu Gly
225 230 235 240

Lys Val Lys Gln Leu Lys Asp Ala Ala Glu Lys Leu Ala Gly Asp Thr
245 250 255

Glu Ala Lys Ile Arg Arg Ile Thr Asp Leu Glu Arg Lys Ile Gln Asp
260 265 270

Leu Asn Leu Ser Arg Gln Ala Lys Ala Asp Gln Leu Arg Ile Leu Glu
275 280 285

Asp Gln Val Val Ala Ile Lys Asn Glu Ile Val Glu Gln Glu Lys Lys
290 295 300

Tyr Ala Arg Cys Tyr Ser Trp Gly Trp Gly Trp Gly Trp
305 310 315

<210> 21

<211> 308

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Teilfragment 1, mit vier Tryptophanen und C-terminalem His-Tag
(AMB4-TF1-4W-His)

<400> 21

Met Gln Asp Asp Cys Asn Arg Gly Ala Cys His Pro Thr Thr Gly Asp
1 5 10 15

Leu Leu Val Gly Arg Asn Thr Gln Leu Met Ala Ser Ser Thr Cys Gly
20 25 30

Leu Ser Arg Ala Gln Lys Tyr Cys Ile Leu Ser Tyr Leu Glu Gly Glu
35 40 45

Gln Lys Cys Phe Ile Cys Asp Ser Arg Phe Pro Tyr Asp Pro Tyr Asp
50 55 60

Gln Pro Asn Ser His Thr Ile Glu Asn Val Ile Val Ser Phe Glu Pro
65 70 75 80

Asp Arg Glu Lys Lys Trp Trp Gln Ser Glu Asn Gly Leu Asp His Val
85 90 95

Ser Ile Arg Leu Asp Leu Glu Ala Leu Phe Arg Phe Ser His Leu Ile
100 105 110

Leu Thr Phe Lys Thr Phe Arg Pro Ala Ala Met Leu Val Glu Arg Ser
115 120 125

Thr Asp Tyr Gly His Asn Trp Lys Val Phe Lys Tyr Phe Ala Lys Asp
130 135 140

Cys Ala Thr Ser Phe Pro Asn Ile Thr Ser Gly Gln Ala Gln Gly Val
145 150 155 160

Gly Asp Ile Val Cys Asp Ser Lys Tyr Ser Asp Ile Glu Pro Ser Thr
165 170 175

Gly Gly Glu Val Val Leu Lys Val Leu Asp Pro Ser Phe Glu Ile Glu
180 185 190

Asn Pro Tyr Ser Pro Tyr Ile Gln Asp Leu Val Thr Leu Thr Asn Leu
195 200 205

Arg Ile Asn Phe Thr Lys Leu His Thr Leu Gly Asp Ala Leu Leu Gly
210 215 220

Arg Arg Gln Asn Asp Ser Leu Asp Lys Tyr Tyr Tyr Ala Leu Tyr Glu
225 230 235 240

Met Ile Val Arg Gly Ser Cys Phe Cys Asn Gly His Ala Ser Glu Cys
245 250 255

Arg Pro Met Gln Lys Met Arg Gly Asp Val Phe Ser Pro Pro Gly Met
260 265 270

Val His Gly Gln Cys Val Cys Gln His Asn Thr Asp Gly Pro Asn Cys
275 280 285

Glu Arg Cys Lys Asp Phe Phe Gln Asp Ala Pro Trp Leu Glu His His
290 295 300

His His His His
305

<210> 22

<211> 309

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Teilfragment 2, mit vier Tryptophanen und C-terminalem His-Tag

(LAMB4-TF2-4W-His)

<400> 22

Met Pro Asn Cys Glu Arg Cys Lys Asp Phe Phe Gln Asp Ala Pro Trp

Gly Gly Ala Tyr Ser Asn Val Cys Ser Pro Lys Asn Gly Gln Cys Glu
210 215 220

Cys Arg Pro His Val Thr Gly Arg Ser Cys Ser Glu Pro Ala Pro Gly
225 230 235 240

Tyr Phe Phe Ala Pro Leu Asn Phe Tyr Leu Tyr Glu Ala Glu Glu Ala
245 250 255

Thr Thr Leu Gln Gly Leu Ala Pro Leu Gly Ser Glu Thr Phe Gly Gln
260 265 270

Ser Pro Ala Val His Val Val Leu Gly Glu Pro Val Pro Gly Asn Pro
275 280 285

Val Thr Trp Thr Gly Pro Gly Phe Ala Arg Val Leu Trp Leu Glu His
290 295 300

His His His His His
305

- <210> 23
- <211> 326
- <212> PRT
- <213> Artificial Sequence

<220>
<223> Teilfragment 3, mit vier Tryptophanen und C-terminalem His-Tag
(LAMB4-TF3-4W-His)

<400> 23

Met Gly Asn Pro Val Thr Trp Thr Gly Pro Gly Phe Ala Arg Val Leu
1 5 10 15

Pro Gly Ala Gly Leu Arg Phe Ala Val Asn Asn Ile Pro Phe Pro Val
20 25 30

Asp Phe Thr Ile Ala Ile His Tyr Glu Thr Gln Ser Ala Ala Asp Trp
35 40 45

Thr Val Gln Ile Val Val Asn Pro Pro Gly Gly Ser Glu His Cys Ile
50 55 60

Pro Lys Thr Leu Gln Ser Lys Pro Gln Ser Phe Ala Leu Pro Ala Ala
65 70 75 80

Thr Arg Ile Met Leu Leu Pro Thr Pro Ile Cys Leu Glu Pro Asp Val
85 90 95

Gln Tyr Ser Ile Asp Val Tyr Phe Ser Gln Pro Leu Gln Gly Glu Ser
100 105 110

His Ala His Ser His Val Leu Val Asp Ser Leu Gly Leu Ile Pro Gln
115 120 125

Ile Asn Ser Leu Glu Asn Phe Cys Ser Lys Gln Asp Leu Asp Glu Tyr
130 135 140

Gln Leu His Asn Cys Val Glu Ile Ala Ser Ala Met Gly Pro Gln Val
145 150 155 160

Leu Pro Gly Ala Cys Glu Arg Leu Ile Ile Ser Met Ser Ala Lys Leu
165 170 175

His Asp Gly Ala Val Ala Cys Lys Cys His Pro Gln Gly Ser Val Gly
180 185 190

Ser Ser Cys Ser Arg Leu Gly Gly Gln Cys Gln Cys Lys Pro Leu Val
195 200 205

Val Gly Arg Cys Cys Asp Arg Cys Ser Thr Gly Ser Tyr Asp Leu Gly
210 215 220

His His Gly Cys His Pro Cys His Cys His Pro Gln Gly Ser Lys Asp
225 230 235 240

Thr Val Cys Asp Gln Val Thr Gly Gln Cys Pro Cys His Gly Glu Val
245 250 255

Ser Gly Arg Arg Cys Asp Arg Cys Leu Ala Gly Tyr Phe Gly Phe Pro
260 265 270

Ser Cys His Pro Cys Pro Cys Asn Arg Phe Ala Glu Leu Cys Asp Pro
275 280 285

Glu Thr Gly Ser Cys Phe Asn Cys Gly Gly Phe Thr Thr Gly Arg Asn
290 295 300

Cys Glu Arg Cys Ile Asp Gly Tyr Tyr Gly Asn Trp Gly Trp Leu Glu
305 310 315 320

His His His His His His
325

<210> 24

<211> 294

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Teilfragment 4, mit vier Tryptophanen und C-terminalem His-Tag

(LAMB4-TF4-4W-His)

<400> 24

Met Thr Gly Arg Asn Cys Glu Arg Cys Ile Asp Gly Tyr Tyr Gly Asn
1 5 10 15

Pro Ser Ser Gly Gln Pro Cys Arg Pro Cys Leu Cys Pro Asp Asp Pro
20 25 30

Ser Ser Asn Gln Tyr Phe Ala His Ser Cys Tyr Gln Asn Leu Trp Ser
35 40 45

Ser Asp Val Ile Cys Asn Cys Leu Gln Gly Tyr Thr Gly Thr Gln Cys
50 55 60

Gly Glu Cys Ser Thr Gly Phe Tyr Gly Asn Pro Arg Ile Ser Gly Ala

Cys Asp Arg Cys Ala Arg Gly His Ser Gln Glu Trp Gly Trp Leu Glu
275 280 285

His His His His His His
290

<210> 25

<211> 328

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Teilfragment 5, mit vier Tryptophanen und C-terminalem His-Tag
(LAMB4-TF5-4W-His)

<400> 25

Met Ser Gly Gln Arg Cys Asp Arg Cys Ala Arg Gly His Ser Gln Glu
1 5 10 15

Phe Pro Thr Cys Leu Gln Cys His Leu Cys Phe Asp Gln Trp Asp His
20 25 30

Thr Ile Ser Ser Leu Ser Lys Ala Val Gln Gly Leu Met Arg Leu Ala
35 40 45

Ala Asn Met Glu Asp Lys Arg Glu Thr Leu Pro Val Cys Glu Ala Asp
50 55 60

Phe Lys Asp Leu Arg Gly Asn Val Ser Glu Ile Glu Arg Ile Leu Lys
65 70 75 80

His Pro Val Phe Pro Ser Gly Lys Phe Leu Lys Val Lys Asp Tyr His
85 90 95

Asp Ser Val Arg Arg Gln Ile Met Gln Leu Asn Glu Gln Leu Lys Ala
100 105 110

Val Tyr Glu Phe Gln Asp Leu Lys Asp Thr Ile Glu Arg Ala Lys Asn
115 120 125

Glu Ala Asp Leu Leu Leu Glu Asp Leu Gln Glu Glu Ile Asp Leu Gln
130 135 140

Ser Ser Val Leu Asn Ala Ser Ile Ala Asp Ser Ser Glu Asn Ile Lys
145 150 155 160

Lys Tyr Tyr His Ile Ser Ser Ser Ala Glu Lys Lys Ile Asn Glu Thr
165 170 175

Ser Ser Thr Ile Asn Thr Ser Ala Asn Thr Arg Asn Asp Leu Leu Thr
180 185 190

Ile Leu Asp Thr Leu Thr Ser Lys Gly Asn Leu Ser Leu Glu Arg Leu
195 200 205

Lys Gln Ile Lys Ile Pro Asp Ile Gln Ile Leu Asn Glu Lys Val Cys
210 215 220

Gly Asp Pro Gly Asn Val Pro Cys Val Pro Leu Pro Cys Gly Gly Ala
225 230 235 240

Leu Cys Thr Gly Arg Lys Gly His Arg Lys Cys Arg Gly Pro Gly Cys
245 250 255

His Gly Ser Leu Thr Leu Ser Thr Asn Ala Leu Gln Lys Ala Gln Glu
260 265 270

Ala Lys Ser Ile Ile Arg Asn Leu Asp Lys Gln Val Arg Gly Leu Lys
275 280 285

Asn Gln Ile Glu Ser Ile Ser Glu Gln Ala Glu Val Ser Lys Asn Asn
290 295 300

Ala Leu Gln Leu Arg Glu Lys Leu Gly Asn Ile Trp Gly Trp Gly Trp
305 310 315 320

Leu Glu His His His His His His
325

<210> 26
<211> 325
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Teilfragment 6, mit vier Tryptophanen und C-terminalem His-Tag
(LAMB4-TF6-4W-His)

<400> 26

Met Ser Lys Asn Asn Ala Leu Gln Leu Arg Glu Lys Leu Gly Asn Ile
1 5 10 15

Arg Asn Gln Ser Asp Ser Glu Glu Glu Asn Ile Asn Leu Phe Ile Lys
 20 25 30

Lys Val Lys Asn Phe Leu Leu Glu Glu Asn Val Pro Pro Glu Asp Ile
 35 40 45

Glu Lys Val Ala Asn Gly Val Leu Asp Ile His Leu Pro Ile Pro Ser
 50 55 60

Gln Asn Leu Thr Asp Glu Leu Val Lys Ile Gln Lys His Met Gln Leu
65 70 75 80

Cys Glu Asp Tyr Arg Thr Asp Glu Asn Arg Leu Asn Glu Glu Ala Asp
 85 90 95

Gly Ala Gln Lys Leu Leu Val Lys Ala Lys Ala Ala Glu Lys Ala Ala
 100 105 110

Asn Ile Leu Leu Asn Leu Asp Lys Thr Leu Asn Gln Leu Gln Gln Ala
 115 120 125

Gln Ile Thr Gln Gly Arg Ala Asn Ser Thr Ile Thr Gln Leu Thr Ala
 130 135 140

Asn Ile Thr Lys Ile Lys Lys Asn Val Leu Gln Ala Glu Asn Gln Thr
145 150 155 160

Arg Glu Met Lys Ser Glu Leu Glu Leu Ala Lys Gln Arg Ser Gly Leu
165 170 175

Glu Asp Gly Leu Ser Leu Leu Gln Thr Lys Leu Gln Arg His Gln Asp
180 185 190

His Ala Val Asn Ala Lys Val Gln Ala Glu Ser Ala Gln His Gln Ala
195 200 205

Gly Ser Leu Glu Lys Glu Phe Val Glu Leu Lys Lys Gln Tyr Ala Ile
210 215 220

Leu Gln Arg Lys Thr Ser Thr Thr Gly Leu Thr Lys Glu Thr Leu Gly
225 230 235 240

Lys Val Lys Gln Leu Lys Asp Ala Ala Glu Lys Leu Ala Gly Asp Thr
245 250 255

Glu Ala Lys Ile Arg Arg Ile Thr Asp Leu Glu Arg Lys Ile Gln Asp
260 265 270

Leu Asn Leu Ser Arg Gln Ala Lys Ala Asp Gln Leu Arg Ile Leu Glu
275 280 285

Asp Gln Val Val Ala Ile Lys Asn Glu Ile Val Glu Gln Glu Lys Lys
290 295 300

Tyr Ala Arg Cys Tyr Ser Trp Gly Trp Gly Trp Gly Trp Leu Glu His
305 310 315 320

His His His His His
325

<210> 27
<211> 1761
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 27

Met Gln Phe Gln Leu Thr Leu Phe Leu His Leu Gly Trp Leu Ser Tyr
1 5 10 15

Ser Lys Ala Gln Asp Asp Cys Asn Arg Gly Ala Cys His Pro Thr Thr
20 25 30

Gly Asp Leu Leu Val Gly Arg Asn Thr Gln Leu Met Ala Ser Ser Thr
35 40 45

Cys Gly Leu Ser Arg Ala Gln Lys Tyr Cys Ile Leu Ser Tyr Leu Glu
50 55 60

Gly Glu Gln Lys Cys Phe Ile Cys Asp Ser Arg Phe Pro Tyr Asp Pro
65 70 75 80

Tyr Asp Gln Pro Asn Ser His Thr Ile Glu Asn Val Ile Val Ser Phe
85 90 95

Glu Pro Asp Arg Glu Lys Lys Trp Trp Gln Ser Glu Asn Gly Leu Asp
100 105 110

His Val Ser Ile Arg Leu Asp Leu Glu Ala Leu Phe Arg Phe Ser His
115 120 125

Leu Ile Leu Thr Phe Lys Thr Phe Arg Pro Ala Ala Met Leu Val Glu
130 135 140

Arg Ser Thr Asp Tyr Gly His Asn Trp Lys Val Phe Lys Tyr Phe Ala
145 150 155 160

Lys Asp Cys Ala Thr Ser Phe Pro Asn Ile Thr Ser Gly Gln Ala Gln
165 170 175

Gly Val Gly Asp Ile Val Cys Asp Ser Lys Tyr Ser Asp Ile Glu Pro
180 185 190

Ser Thr Gly Gly Glu Val Val Leu Lys Val Leu Asp Pro Ser Phe Glu

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

Gly Thr Ile Ser Gly Gly Ile Cys Val Ser His Ser Asp Pro Ala Leu
405 410 415

Gly Ser Val Ala Gly Gln Cys Leu Cys Lys Glu Asn Val Glu Gly Ala
420 425 430

Lys Cys Asp Gln Cys Lys Pro Asn His Tyr Gly Leu Ser Ala Thr Asp
435 440 445

Pro Leu Gly Cys Gln Pro Cys Asp Cys Asn Pro Leu Gly Ser Leu Pro
450 455 460

Phe Leu Thr Cys Asp Val Asp Thr Gly Gln Cys Leu Cys Leu Ser Tyr
465 470 475 480

Val Thr Gly Ala His Cys Glu Glu Cys Thr Val Gly Tyr Trp Gly Leu
485 490 495

Gly Asn His Leu His Gly Cys Ser Pro Cys Asp Cys Asp Ile Gly Gly
500 505 510

Ala Tyr Ser Asn Val Cys Ser Pro Lys Asn Gly Gln Cys Glu Cys Arg
515 520 525

Pro His Val Thr Gly Arg Ser Cys Ser Glu Pro Ala Pro Gly Tyr Phe
530 535 540

Phe Ala Pro Leu Asn Phe Tyr Leu Tyr Glu Ala Glu Glu Ala Thr Thr
545 550 555 560

Leu Gln Gly Leu Ala Pro Leu Gly Ser Glu Thr Phe Gly Gln Ser Pro
565 570 575

Ala Val His Val Val Leu Gly Glu Pro Val Pro Gly Asn Pro Val Thr
580 585 590

Trp Thr Gly Pro Gly Phe Ala Arg Val Leu Pro Gly Ala Gly Leu Arg
595 600 605

Phe Ala Val Asn Asn Ile Pro Phe Pro Val Asp Phe Thr Ile Ala Ile
610 615 620

His Tyr Glu Thr Gln Ser Ala Ala Asp Trp Thr Val Gln Ile Val Val
625 630 635 640

Asn Pro Pro Gly Gly Ser Glu His Cys Ile Pro Lys Thr Leu Gln Ser
645 650 655

Lys Pro Gln Ser Phe Ala Leu Pro Ala Ala Thr Arg Ile Met Leu Leu
660 665 670

Pro Thr Pro Ile Cys Leu Glu Pro Asp Val Gln Tyr Ser Ile Asp Val
675 680 685

Tyr Phe Ser Gln Pro Leu Gln Gly Glu Ser His Ala His Ser His Val
690 695 700

Leu Val Asp Ser Leu Gly Leu Ile Pro Gln Ile Asn Ser Leu Glu Asn
705 710 715 720

Phe Cys Ser Lys Gln Asp Leu Asp Glu Tyr Gln Leu His Asn Cys Val
725 730 735

Glu Ile Ala Ser Ala Met Gly Pro Gln Val Leu Pro Gly Ala Cys Glu
740 745 750

Arg Leu Ile Ile Ser Met Ser Ala Lys Leu His Asp Gly Ala Val Ala
755 760 765

Cys Lys Cys His Pro Gln Gly Ser Val Gly Ser Ser Cys Ser Arg Leu
770 775 780

Gly Gly Gln Cys Gln Cys Lys Pro Leu Val Val Gly Arg Cys Cys Asp
785 790 795 800

Arg Cys Ser Thr Gly Ser Tyr Asp Leu Gly His His Gly Cys His Pro
805 810 815

Cys His Cys His Pro Gln Gly Ser Lys Asp Thr Val Cys Asp Gln Val
820 825 830

Thr Gly Gln Cys Pro Cys His Gly Glu Val Ser Gly Arg Arg Cys Asp
835 840 845

Arg Cys Leu Ala Gly Tyr Phe Gly Phe Pro Ser Cys His Pro Cys Pro
850 855 860

Cys Asn Arg Phe Ala Glu Leu Cys Asp Pro Glu Thr Gly Ser Cys Phe
865 870 875 880

Asn Cys Gly Gly Phe Thr Thr Gly Arg Asn Cys Glu Arg Cys Ile Asp
885 890 895

Gly Tyr Tyr Gly Asn Pro Ser Ser Gly Gln Pro Cys Arg Pro Cys Leu
900 905 910

Cys Pro Asp Asp Pro Ser Ser Asn Gln Tyr Phe Ala His Ser Cys Tyr
915 920 925

Gln Asn Leu Trp Ser Ser Asp Val Ile Cys Asn Cys Leu Gln Gly Tyr
930 935 940

Thr Gly Thr Gln Cys Gly Glu Cys Ser Thr Gly Phe Tyr Gly Asn Pro
945 950 955 960

Arg Ile Ser Gly Ala Pro Cys Gln Pro Cys Ala Cys Asn Asn Asn Ile
965 970 975

Asp Val Thr Asp Pro Glu Ser Cys Ser Arg Val Thr Gly Glu Cys Leu
980 985 990

Arg Cys Leu His Asn Thr Gln Gly Ala Asn Cys Gln Leu Cys Lys Pro
995 1000 1005

Gly His Tyr Gly Ser Ala Leu Asn Gln Thr Cys Arg Arg Cys Ser

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

Glu Asp Lys Arg Glu Thr Leu Pro Val Cys Glu Ala Asp Phe Lys
1205 1210 1215

Asp Leu Arg Gly Asn Val Ser Glu Ile Glu Arg Ile Leu Lys His
1220 1225 1230

Pro Val Phe Pro Ser Gly Lys Phe Leu Lys Val Lys Asp Tyr His
1235 1240 1245

Asp Ser Val Arg Arg Gln Ile Met Gln Leu Asn Glu Gln Leu Lys
1250 1255 1260

Ala Val Tyr Glu Phe Gln Asp Leu Lys Asp Thr Ile Glu Arg Ala
1265 1270 1275

Lys Asn Glu Ala Asp Leu Leu Leu Glu Asp Leu Gln Glu Glu Ile
1280 1285 1290

Asp Leu Gln Ser Ser Val Leu Asn Ala Ser Ile Ala Asp Ser Ser
1295 1300 1305

Glu Asn Ile Lys Lys Tyr Tyr His Ile Ser Ser Ser Ala Glu Lys
1310 1315 1320

Lys Ile Asn Glu Thr Ser Ser Thr Ile Asn Thr Ser Ala Asn Thr
1325 1330 1335

Arg Asn Asp Leu Leu Thr Ile Leu Asp Thr Leu Thr Ser Lys Gly
1340 1345 1350

Asn Leu Ser Leu Glu Arg Leu Lys Gln Ile Lys Ile Pro Asp Ile
1355 1360 1365

Gln Ile Leu Asn Glu Lys Val Cys Gly Asp Pro Gly Asn Val Pro
1370 1375 1380

Cys Val Pro Leu Pro Cys Gly Gly Ala Leu Cys Thr Gly Arg Lys
1385 1390 1395

Gly His Arg Lys Cys Arg Gly Pro Gly Cys His Gly Ser Leu Thr
1400 1405 1410

Leu Ser Thr Asn Ala Leu Gln Lys Ala Gln Glu Ala Lys Ser Ile
1415 1420 1425

Ile Arg Asn Leu Asp Lys Gln Val Arg Gly Leu Lys Asn Gln Ile
1430 1435 1440

Glu Ser Ile Ser Glu Gln Ala Glu Val Ser Lys Asn Asn Ala Leu
1445 1450 1455

Gln Leu Arg Glu Lys Leu Gly Asn Ile Arg Asn Gln Ser Asp Ser
1460 1465 1470

Glu Glu Glu Asn Ile Asn Leu Phe Ile Lys Lys Val Lys Asn Phe
1475 1480 1485

Leu Leu Glu Glu Asn Val Pro Pro Glu Asp Ile Glu Lys Val Ala
1490 1495 1500

Asn Gly Val Leu Asp Ile His Leu Pro Ile Pro Ser Gln Asn Leu
1505 1510 1515

Thr Asp Glu Leu Val Lys Ile Gln Lys His Met Gln Leu Cys Glu
1520 1525 1530

Asp Tyr Arg Thr Asp Glu Asn Arg Leu Asn Glu Glu Ala Asp Gly
1535 1540 1545

Ala Gln Lys Leu Leu Val Lys Ala Lys Ala Ala Glu Lys Ala Ala
1550 1555 1560

Asn Ile Leu Leu Asn Leu Asp Lys Thr Leu Asn Gln Leu Gln Gln
1565 1570 1575

Ala Gln Ile Thr Gln Gly Arg Ala Asn Ser Thr Ile Thr Gln Leu
1580 1585 1590

Thr Ala Asn Ile Thr Lys Ile Lys Lys Asn Val Leu Gln Ala Glu
1595 1600 1605

Asn Gln Thr Arg Glu Met Lys Ser Glu Leu Glu Leu Ala Lys Gln
1610 1615 1620

Arg Ser Gly Leu Glu Asp Gly Leu Ser Leu Leu Gln Thr Lys Leu
1625 1630 1635

Gln Arg His Gln Asp His Ala Val Asn Ala Lys Val Gln Ala Glu
1640 1645 1650

Ser Ala Gln His Gln Ala Gly Ser Leu Glu Lys Glu Phe Val Glu
1655 1660 1665

Leu Lys Lys Gln Tyr Ala Ile Leu Gln Arg Lys Thr Ser Thr Thr
1670 1675 1680

Gly Leu Thr Lys Glu Thr Leu Gly Lys Val Lys Gln Leu Lys Asp
1685 1690 1695

Ala Ala Glu Lys Leu Ala Gly Asp Thr Glu Ala Lys Ile Arg Arg
1700 1705 1710

Ile Thr Asp Leu Glu Arg Lys Ile Gln Asp Leu Asn Leu Ser Arg
1715 1720 1725

Gln Ala Lys Ala Asp Gln Leu Arg Ile Leu Glu Asp Gln Val Val
1730 1735 1740

Ala Ile Lys Asn Glu Ile Val Glu Gln Glu Lys Lys Tyr Ala Arg
1745 1750 1755

Cys Tyr Ser
1760

<210> 28

<211> 779
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> SEQ ID NO 8 aus EP3260864

<400> 28

Met Asp Cys Thr Phe Lys Pro Asp Phe Glu Met Thr Val Lys Glu Cys
1 5 10 15

Gln His Ser Gly Glu Leu Ser Ser Arg Asn Thr Gly His Leu His Pro
20 25 30

Thr Pro Arg Ser Pro Leu Leu Arg Trp Thr Gln Glu Pro Gln Pro Leu
35 40 45

Glu Glu Lys Trp Gln His Arg Val Val Glu Gln Ile Pro Lys Glu Val
50 55 60

Gln Phe Gln Pro Pro Gly Ala Pro Leu Glu Lys Glu Lys Ser Gln Gln
65 70 75 80

Cys Tyr Ser Glu Tyr Phe Ser Gln Thr Ser Thr Glu Leu Gln Ile Thr
85 90 95

Phe Asp Glu Thr Asn Pro Ile Thr Arg Leu Ser Glu Ile Glu Lys Ile
100 105 110

Arg Asp Gln Ala Leu Asn Asn Ser Arg Pro Pro Val Arg Tyr Gln Asp
115 120 125

Asn Ala Cys Glu Met Glu Leu Val Lys Val Leu Thr Pro Leu Glu Ile
130 135 140

Ala Lys Asn Lys Gln Tyr Asp Met His Thr Glu Val Thr Thr Leu Lys
145 150 155 160

Gln Glu Lys Asn Pro Val Pro Ser Ala Glu Glu Trp Met Leu Glu Gly
165 170 175

Cys Arg Ala Ser Gly Gly Leu Lys Lys Gly Asp Phe Leu Lys Lys Gly
180 185 190

Leu Glu Pro Glu Thr Phe Gln Asn Phe Asp Gly Asp His Ala Cys Ser
195 200 205

Val Arg Asp Asp Glu Phe Lys Phe Gln Gly Leu Arg His Thr Val Thr
210 215 220

Ala Arg Gln Leu Val Glu Ala Lys Leu Leu Asp Met Arg Thr Ile Glu
225 230 235 240

Gln Leu Arg Leu Gly Leu Lys Thr Val Glu Glu Val Gln Lys Thr Leu
245 250 255

Asn Lys Phe Leu Thr Lys Ala Thr Ser Ile Ala Gly Leu Tyr Leu Glu
260 265 270

Ser Thr Lys Glu Lys Ile Ser Phe Ala Ser Ala Ala Glu Arg Ile Ile
275 280 285

Ile Asp Lys Met Val Ala Leu Ala Phe Leu Glu Ala Gln Ala Ala Thr
290 295 300

Gly Phe Ile Ile Asp Pro Ile Ser Gly Gln Thr Tyr Ser Val Glu Asp
305 310 315 320

Ala Val Leu Lys Gly Val Val Asp Pro Glu Phe Arg Ile Arg Leu Leu
325 330 335

Glu Ala Glu Lys Ala Ala Val Gly Tyr Ser Tyr Ser Ser Lys Thr Leu
340 345 350

Ser Val Phe Gln Ala Met Glu Asn Arg Met Leu Asp Arg Gln Lys Gly
355 360 365

Lys His Ile Leu Glu Ala Gln Ile Ala Ser Gly Gly Val Ile Asp Pro

Gly Tyr Trp Leu Thr Ala Ser Gly Glu Arg Ile Ser Val Leu Lys Ala
580 585 590

Ser Arg Arg Asn Leu Val Asp Arg Ile Thr Ala Leu Arg Cys Leu Glu
595 600 605

Ala Gln Val Ser Thr Gly Gly Ile Ile Asp Pro Leu Thr Gly Lys Lys
610 615 620

Tyr Arg Val Ala Glu Ala Leu His Arg Gly Leu Val Asp Glu Gly Phe
625 630 635 640

Ala Gln Gln Leu Arg Gln Cys Glu Leu Val Ile Thr Gly Ile Gly His
645 650 655

Pro Ile Thr Asn Lys Met Met Ser Val Val Glu Ala Val Asn Ala Asn
660 665 670

Ile Ile Asn Lys Glu Met Gly Ile Arg Cys Leu Glu Phe Gln Tyr Leu
675 680 685

Thr Gly Gly Leu Ile Glu Pro Gln Val His Ser Arg Leu Ser Ile Glu
690 695 700

Glu Ala Leu Gln Val Gly Ile Ile Asp Val Leu Ile Ala Thr Lys Leu
705 710 715 720

Lys Asp Gln Lys Ser Tyr Val Arg Asn Ile Ile Cys Pro Gln Thr Lys
725 730 735

Arg Lys Leu Thr Tyr Lys Glu Ala Leu Glu Lys Ala Asp Phe Asp Phe
740 745 750

His Thr Gly Leu Lys Leu Leu Glu Val Ser Glu Pro Leu Met Thr Gly
755 760 765

Ile Ser Ser Leu Tyr Tyr Ser Ser Leu Leu Glu
770 775

<210> 29
<211> 25
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Gliadin Peptid

<400> 29

Leu Gly Gln Gln Gln Pro Phe Pro Pro Gln Gln Pro Tyr Pro Gln Pro
1 5 10 15

Gln Pro Phe Pro Ser Gln Gln Pro Tyr
 20 25

<210> 30
<211> 17
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Gliadin Peptid

<400> 30

Gln Leu Gln Pro Phe Pro Gln Pro Glu Leu Pro Tyr Pro Gln Pro Gln
1 5 10 15

Ser

<210> 31
<211> 20
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Gliadin Peptid

<400> 31

Gln Gln Leu Pro Gln Pro Glu Gln Pro Gln Gln Ser Phe Pro Glu Gln
1 5 10 15

Glu Arg Pro Phe
20

Ansprüche

5 1. Polypeptid umfassend Laminin beta-4 oder eine Variante davon, bevorzugt in rekombinanter und/oder isolierter Form.

10 2. Polypeptid gemäß Anspruch 1, wobei das Polypeptid immobilisiert ist.

15 3. Träger umfassend das Polypeptide nach Anspruch 1 oder 2, weiter umfassend wenigstens ein, bevorzugt alle Antigene aus der Gruppe umfassend Laminin gamma-1, Laminin 332, BP180, BP230, Desmoglein 1, Desmoglein 3, Envoplakin, Gliadin und Kollagen Typ VII oder Varianten davon und Spalthaut.

20 4. Träger nach Anspruch 3, wobei der Träger aus der Gruppe ausgewählt ist, die einen Glasträger, bevorzugt Objektträger für Mikroskopie, noch bevorzugter mit einer eukaryontischen Zelle, die Laminin beta-4 oder eine Variante davon überexprimiert, einen Biochip, eine Mikrotiterplatte, eine Lateral Flow-Vorrichtung, einen Teststreifen, eine Membran, bevorzugt einen Blot, bevorzugter ein Linienblot, ein Chromatographiesäulenmaterial und einen Bead umfasst, bevorzugt einen magnetischen oder fluoreszenten Bead.

25 5. Therapeutisch nützlicher Träger umfassend das Polypeptid gemäß einem der Ansprüche 1 bis 2, wobei der Träger das Kontaktieren von menschlichem Blut mit dem Polypeptid, gefolgt von der Rückführung des Blutes in den Körper eines Patienten gestattet, wobei der Träger bevorzugt eine Aphereseapparatur ist.

30 6. Antikörper, bevorzugt Autoantikörper gegen Laminin beta-4, bevorzugt in isolierter Form.

7. Verwendung des Polypeptides, Trägers oder Autoantikörpers nach einem der Ansprüche 1 bis 6 zur Diagnose einer Krankheit.

5

8. Verfahren zur Herstellung eines diagnostisch oder therapeutisch nützlichen Trägers, umfassend den Schritt Beschichten des Trägers mit dem Polypeptid gemäß Anspruch 1.

10

9. Verfahren zum Aufreinigen eines Autoantikörpers, umfassend die Schritte

a) Kontaktieren einer Flüssigkeit umfassend den Autoantikörper mit dem Polypeptid nach Anspruch 1 unter Bedingungen, die die Ausbildung eines Komplexes umfassend den Autoantikörper und das Polypeptid gestatten,

15

b) Isolieren des Komplexes aus Schritt a), und

c) optional Nachweisen des Komplexes aus Schritt a) oder Dissoziieren des in Schritt b) isolierten Komplexes, gefolgt von Abtrennen des Autoantikörpers vom Polypeptid.

20

10. Verfahren umfassend den Schritt Nachweisen eines Autoantikörpers gegen Laminin beta-4 in einer Probe.

25

11. Pharmazeutische Zusammensetzung umfassend das Polypeptid nach Anspruch 1 oder eine Variante davon, bevorzugt zusammen mit einem pharmazeutisch akzeptablen Träger.

30

12. Kit umfassend das Polypeptid nach einem der Ansprüche 1 oder 2 oder den Träger nach einem der Ansprüche 3 bis 4, wobei das Kit ein oder mehr als ein Reagenz aus der Gruppe enthält, die eine Waschlösung, eine Kalibratorlösung, einen Antikörper gegen Laminin beta-4, und ein Mittel zum Nachweisen eines

35

Autoantikörpers gegen Laminin beta-4, bevorzugt einen sekundären Antikörper, umfasst.

5 13. Verwendung des Polypeptids gemäß Anspruch 1, des Trägers gemäß einem der Ansprüche 3 bis 4 oder eines Antikörpers, bevorzugt Autoantikörpers gegen Laminin beta-4 zur Herstellung eines Kits oder diagnostisch oder therapeutisch nützlichen Trägers.

10 14. Verfahren, Verwendung oder Kit gemäß einem der Ansprüche 7 bis 10 und 12 bis 13, wobei ein Autoantikörper gegen Laminin beta-4 unter Verwendung einer Methode nachgewiesen wird, die aus der Gruppe ausgewählt ist, welche Immundiffusion, Immunelektrophorese, Lichtstreuung, Agglutination, Immuntest mit Markierung wie die aus der Gruppe umfassend Immuntest mit radioaktiver Markierung, mit enzymatischer Markierung, bevorzugter ELISA, mit Chemilumineszenz-Markierung, bevorzugter Elektrochemilumineszenz-Markierung, mit Immunfluoreszenz-Markierung, bevorzugt indirekte Immunfluoreszenz, umfasst.

20 15. Verwendung des Polypeptides gemäß Anspruch 1 oder des Antikörpers gemäß Anspruch 6 zur Bestimmung der Fähigkeit, bevorzugt Kapazität einer diagnostischen oder therapeutischen Vorrichtung oder eines diagnostischen oder therapeutischen Reagenz, einen Antikörper gegen Laminin beta-4 zu binden.

25 16. Verfahren gemäß Anspruch 10, wobei der Autoantikörper in einer Gewebeprobe eines Patienten oder mit einem Träger umfassend Laminin beta-4 oder eine Variante davon, bevorzugt gemäß Anspruch 3 oder 4 nachgewiesen wird.

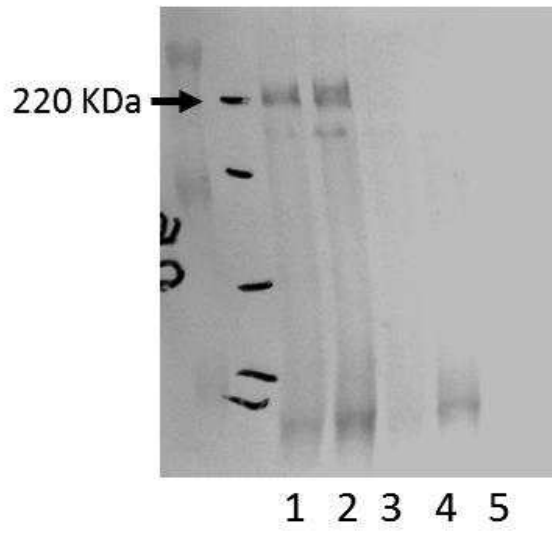
30

Zusammenfassung

Die vorliegende Erfindung betrifft ein Polypeptid umfassend Laminin beta-4, ein Träger umfassend das Polypeptid, einen Antikörper, bevorzugt Autoantikörper gegen Laminin beta-4, eine Verwendung des Polypeptides, Trägers oder Autoantikörpers zur Diagnose einer Krankheit sowie ein Verfahren umfassend den Schritt Nachweisen eines Autoantikörpers gegen Laminin beta-4 in einer Probe.

(Fig. 2)

A



B

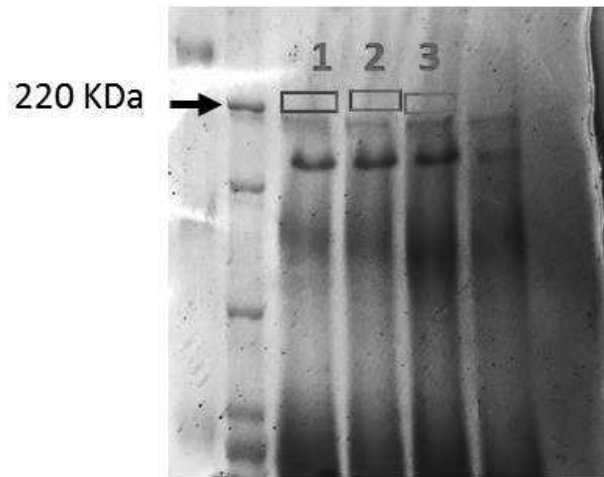


Fig. 1

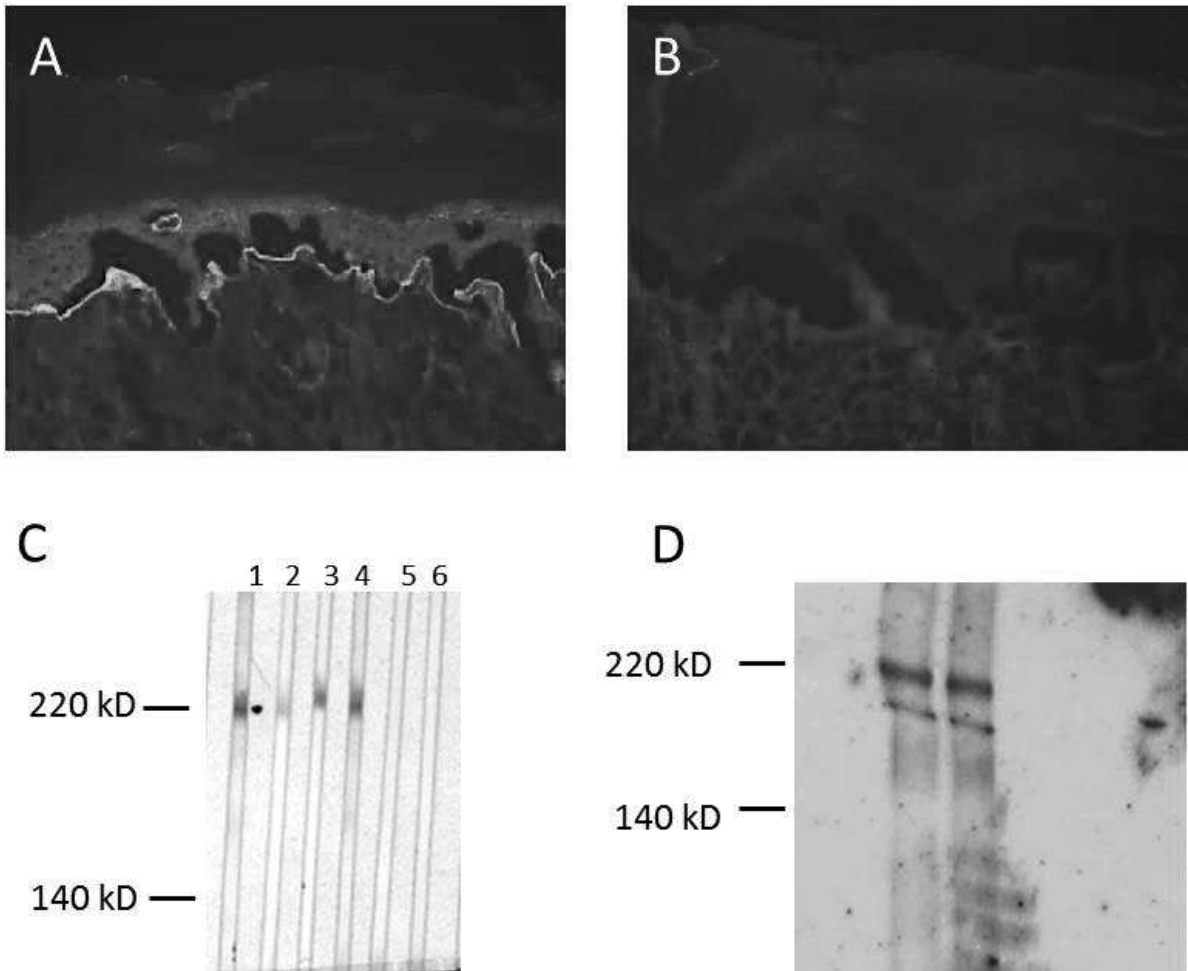
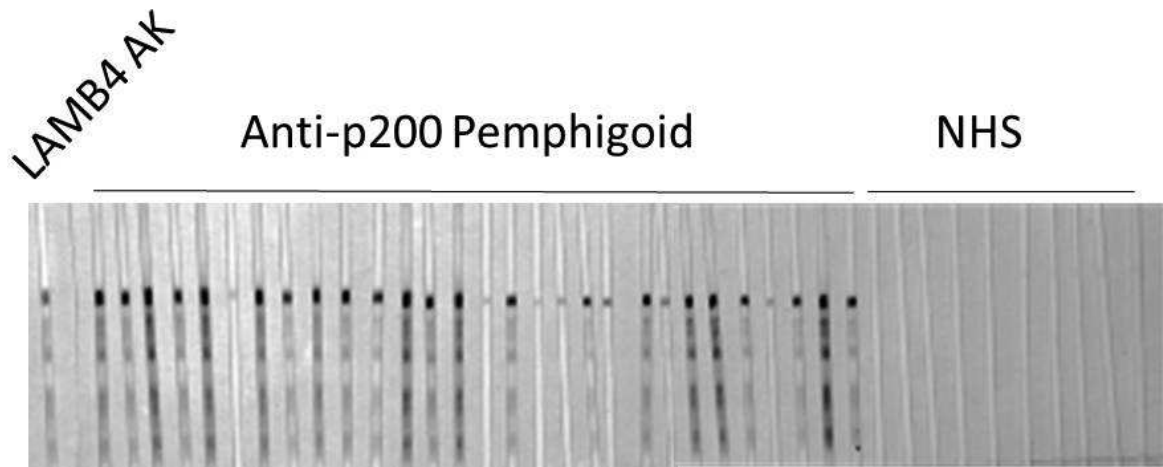


Fig. 2



5

Fig. 3

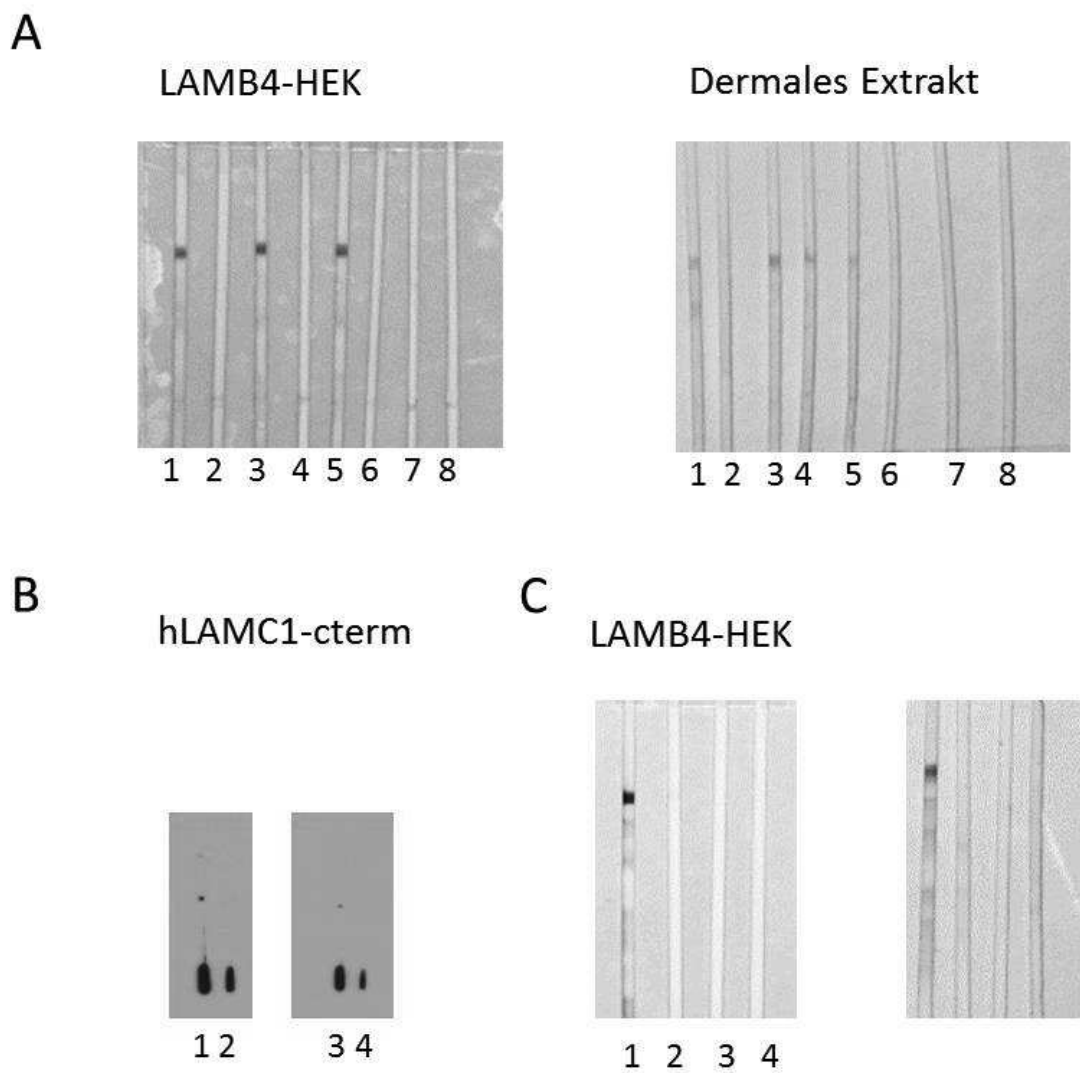


Fig. 4

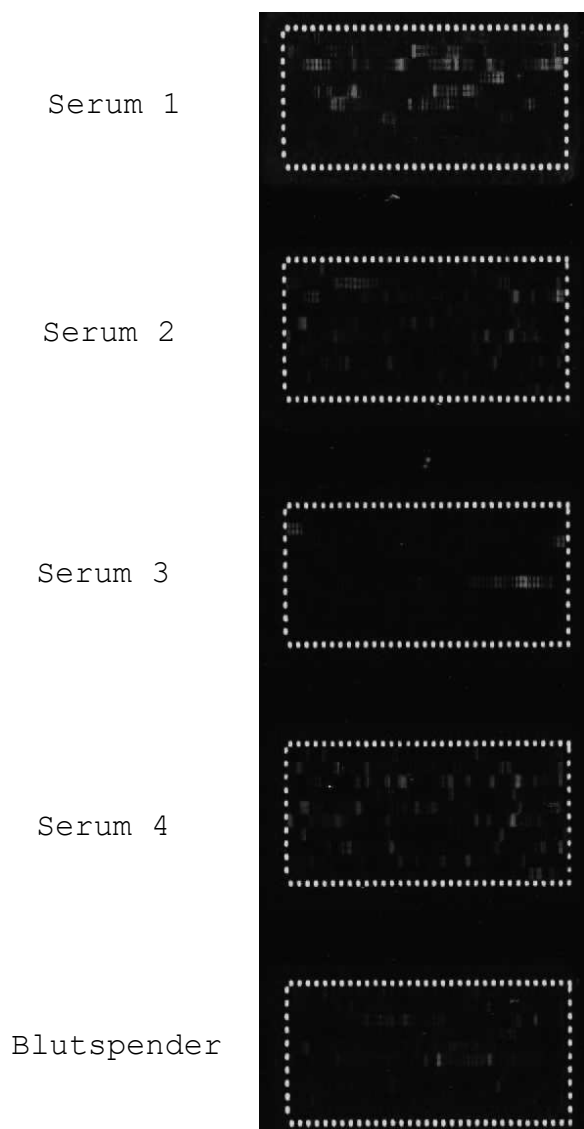


Fig. 5

专利名称(译)	自身免疫性大疱性疾病的诊断		
公开(公告)号	JP2020090477A	公开(公告)日	2020-06-11
申请号	JP2019190722	申请日	2019-10-18
[标]发明人	クリスティアン・プロープスト		
发明人	クリスティアン・プロープスト クリスティアン・ラジムスキー ラルス・コモロフスキー ヴォルフガング・シュルムベルガー ヴィンフリート・シュテッカー デートレフ・ツイリケンス クリストフ・ハマーズ エンノ・シュミット シュテファニー・ゴレッツ		
IPC分类号	C07K14/705 G01N33/53 G01N33/543 C07K17/00 C07K16/28 A61K38/17 A61P37/06 A61P17/00 A61K39/00 A61K47/04 A61K47/46 C12N15/12		
CPC分类号	A61K38/00 A61P37/00 C07K14/78 C07K16/18 G01N33/54306 G01N33/6854 G01N33/6893 G01N2333 /78 G01N2800/24 G01N33/564 G01N33/6887 G01N2800/20 G01N2800/202 C07K16/28 C07K17/00		
FI分类号	C07K14/705 G01N33/53.ZNA.N G01N33/543.501.A C07K17/00 C07K16/28 A61K38/17 A61P37/06 A61P17/00 A61K39/00.H A61K47/04 A61K47/46 C12N15/12		
F-TERM分类号	4C076/CC07 4C076/DD21 4C076/DD27 4C076/EE56 4C076/FF02 4C084/AA02 4C084/AA03 4C084 /AA07 4C084/BA01 4C084/BA42 4C084/BA44 4C084/CA36 4C084/CA53 4C084/MA05 4C084/NA14 4C084/ZA891 4C084/ZA892 4C084/ZB081 4C084/ZB082 4C085/AA08 4C085/BB11 4C085/CC21 4C085/EE03 4H045/AA10 4H045/AA11 4H045/AA30 4H045/BA10 4H045/BA60 4H045/CA40 4H045 /DA50 4H045/DA75 4H045/EA20 4H045/EA50 4H045/FA10 4H045/FA74 4H045/FA80 4H045/GA26		
代理人(译)	中村綾子 田中宇 徳本光一		
优先权	2018201752 2018-10-22 EP		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

要解决的问题：提供一种诊断自身免疫性大疱性疾病的方法。包含层粘连蛋白β4的多肽，包含该多肽的载体，针对层粘连蛋白β4的抗体，优选自身抗体，用于诊断疾病的多肽，载体或自身抗体和层粘连蛋白在样品中的用途。一种包括检测针对β4的自身抗体的方法。[选择图]图2

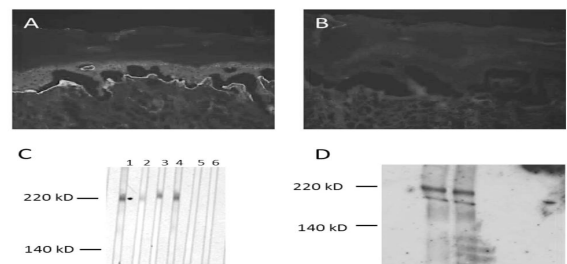


Fig. 2