



(19)
Bundesrepublik Deutschland
Deutsches Patent- und Markenamt

(10) **DE 601 27 442 T2** 2007.11.29

(12) **Übersetzung der europäischen Patentschrift**

(97) **EP 1 337 850 B1**

(21) Deutsches Aktenzeichen: **601 27 442.3**

(86) PCT-Aktenzeichen: **PCT/EP01/13876**

(96) Europäisches Aktenzeichen: **01 994 744.9**

(87) PCT-Veröffentlichungs-Nr.: **WO 2002/044734**

(86) PCT-Anmeldetag: **28.11.2001**

(87) Veröffentlichungstag
der PCT-Anmeldung: **06.06.2002**

(97) Erstveröffentlichung durch das EPA: **27.08.2003**

(97) Veröffentlichungstag
der Patenterteilung beim EPA: **21.03.2007**

(47) Veröffentlichungstag im Patentblatt: **29.11.2007**

(51) Int Cl.⁸: **G01N 33/574** (2006.01)
A61K 39/395 (2006.01)

(30) Unionspriorität:
19972000 28.11.2000 AT

(73) Patentinhaber:
Intercell AG, Wien, AT

(74) Vertreter:
Vossius & Partner, 81675 München

(84) Benannte Vertragsstaaten:
**AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT,
LI, LU, MC, NL, PT, SE, TR**

(72) Erfinder:
**SZEKERES-BARTHO, Julia, H-7626 Pecs, HU;
NAGY, Eszter, A-1030 Vienna, AT; POLGAR, Beata,
H-7624 Pecs, HU; PALKOVICS, Tamas, H-8360
Keszthely, HU; KOCH, Margit, A-1110 Vienna, AT;
KLADE, Christoph, A-2700 Wr. Neustadt, AT;
HENICS, Tamas, A-1030 Vienna, AT**

(54) Bezeichnung: **VERFAHREN DER PIBF-KONZENTRATIONSBESTIMMUNG ZUR DIAGNOSE EINES TUMORS IN EINEM PATIENTEN**

Anmerkung: Innerhalb von neun Monaten nach der Bekanntmachung des Hinweises auf die Erteilung des europäischen Patents kann jedermann beim Europäischen Patentamt gegen das erteilte europäische Patent Einspruch einlegen. Der Einspruch ist schriftlich einzureichen und zu begründen. Er gilt erst als eingelegt, wenn die Einspruchsgebühr entrichtet worden ist (Art. 99 (1) Europäisches Patentübereinkommen).

Die Übersetzung ist gemäß Artikel II § 3 Abs. 1 IntPatÜG 1991 vom Patentinhaber eingereicht worden. Sie wurde vom Deutschen Patent- und Markenamt inhaltlich nicht geprüft.

Beschreibung

[0001] Die vorliegende Erfindung betrifft ein rekombinantes Protein mit einer Progesteron-induzierten immunmodulierenden Protein(PIBF)-Aktivität, ein Nukleinsäure-Molekül, das für ein rekombinantes Protein mit einer PIBF-Aktivität codiert, einen Nukleinsäure-Vektor, der diese Nukleinsäuresequenz aufweist, eine Zelle, die diesen Vektor umfasst, und ein Verfahren zur Diagnostizierung eines Tumors bei einem Patienten.

[0002] Zur Aufrechterhaltung einer normalen Schwangerschaft ist die Produktion von Progesteron – einem Steroidhormon mit einem breiten immunsuppressiven Wirkungsspektrum – eine absolute Notwendigkeit. Periphere Lymphozyten gesunder schwangerer Frauen exprimieren nukleare Rezeptoren als Sensoren für dieses Hormon (Szekeres-Bartho et al., J. Reprod. Immunol. 16, 239 (1989); Szekeres-Bartho et al., Cell. Immunol. 125, 273 (1990)), und produzieren ein Vermittler-Protein mit der Bezeichnung Progesteron-induzierter Blockierungsfaktor (PIBF) (Szekeres-Bartho et al., Am. J. Reprod. Immunol. Microbiol. 9, 15 (1985)). Die Sequenz der PIBF-cDNA aus der menschlichen Leber zeigte keine wesentliche Homologie mit der von irgend einem der bekannten Proteine (HSP1BF, Hinterl. Nr. Y09631). Das codierte Vorläuferprotein ist sehr hydrophil und hat ein Molekulargewicht von 89 kDa. Natürlich vorkommender PIBF ist ursprünglich, wie entdeckt, ein 34-36 kDa immunmodulierendes Protein mit einer Sequenzlänge von 757 Aminosäuren.

[0003] Es wurde festgestellt, dass die Konzentration des PIBF in Harnproben gesunder Personen etwa 1-10 ng/ml beträgt, wogegen die Konzentration des PIBF bei schwangeren Frauen ab dem 2. Trimester in einem Bereich von etwa 70-150 ng/ml liegt. Diese hohen Mengen kehren nach einem Abortus oder nach Wehen rasch wieder auf das normale Niveau zurück.

[0004] Es zeigte sich, dass PIBF, welcher die Auswirkungen von Progesteron vermittelt, eine sehr starke immunmodulierende Funktion sowohl in vitro als auch in vivo aufweist. Tatsächlich erwies sich PIBF als für die Schwangerschaft im Mäusemodell essentiell, da aus den Kulturüberständen von Mauslymphozyten isolierter PIBF Föten vor der durch Antiprogesteron induzierten Resorption schützt. Außerdem bewirken neutralisierende Antikörper gegen den Maus-PIBF die Resorption von Embryonen und folglich einen Abortus. Die wichtige Rolle des PIBF bei der menschlichen Fortpflanzung wurde auch durch Messen der geringen Mengen in den Körperflüssigkeiten pathologischer Schwangerschaften bestätigt. PIBF spielt eine wichtige Rolle bei der Aufrechterhaltung der Schwangerschaft, höchst wahrscheinlich dadurch, dass er natürliche Killer-Lymphozyten hemmt. Bedeutsamerweise kann durch experimentelle Manipulation der Menge des PIBF in vitro die Killer-Aktivität der peripheren Blutlymphozyten, die NK (natürliche Killer)-Zellen enthalten, moduliert werden. Es wurde festgestellt, dass es mindestens zwei Wirkmechanismen des PIBF auf NK-Zellen gibt: eine ist eine direkte Hemmung der NK-Zellaktivität. NK-Zellen töten ihre Ziel-Zellen durch Exocytose von Perforin und Serin-Esterase enthaltenden Granula in der Kontaktfläche zwischen Effektor- und Ziel-Zellen. Deziduale Lymphozyten – von welchen 60% NK-Oberflächenmarker tragen – besitzen einen hohen Perforingehalt, sie üben jedoch nur eine geringe cytotoxische Aktivität aus. Obwohl aktivierte NK-Zellen ihre Ziele finden und in Anwesenheit von PIBF binden, setzen sie jedoch kein Perforin aus den Speichergranula frei, und infolgedessen kommt es zu keiner Lyse der Ziel-Zellen. Es scheint, dass PIBF die NK-Zellen lähmt und den cytotoxischen Mechanismus durch Hemmung der Degranulation und dadurch der Freisetzung der Killersubstanzen unter Kontrolle hält.

[0005] Es gibt einen weiteren indirekten Mechanismus, mittels welchem PIBF seine Anti-NK-Wirkung ausübt, nämlich durch eine veränderte Cytokin-Expression. In Anwesenheit von PIBF kommt es zu einer beträchtlichen Abnahme der TNF α -(Tumor-Nekrose-Faktor α)-Produktion durch NK-Zellen, die auch bei der Niederregulierung der NK-Aktivität eine Rolle spielen könnte. Die Menge an sezerniertem TNF α steht im umgekehrten Verhältnis zur PIBF-Produktion, und zwar sowohl in vitro als auch in vivo.

[0006] Der zweite Hauptwirkungsmechanismus von PIBF ist die Induktion der T_{H2}-Cytokin-Dominanz. Die T_{H2}-Dominanz trägt zur Verringerung der zellvermittelten Reaktionen und zur Verbesserung der B-Zellen bei, wogegen die T_{H1}-Dominanz zu verringerten humoralen Reaktionen führt und die zellimmunologischen Mechanismen begünstigt. Sezernierter PIBF erleichtert die Produktion von T_{H2}-Cytokinen, wie IL-3, IL-4 und IL-10, wogegen er T_{H1}-Cytokine, wie IL-12 und IFN- γ supprimiert, und zwar sowohl in vitro als auch in vivo. Die Neutralisierung des PIBF durch spezifische Antikörper führt in vivo zu einer T_{H1}-Verschiebung, die auch ein Charakteristikum von fehlgeschlagenen Schwangerschaften ist. Die Auswirkung des PIBF auf humorale Immunreaktionen ist nicht nur eine einfache Verbesserung, sondern auch die Induktion der Erzeugung asymmetrischer Antikörper. Dies ist eine Population von Antikörpern (Ak), die auf Grund des Vorhandenseins eines Manno-se-reichen Oligosaccharid-Restes an einem der Fab-Arme des Moleküls eine asymmetrische Struktur hat, und die keine oder nur geringe Effektorfunktionen hat; diese Ak könnten jedoch als blockierende Antikörper wirken. Das Verhältnis von asymmetrischem IgG war in Überständen von Hybridom-Zellen, die in Gegenwart von PIBF

gezüchtet worden waren, wesentlich höher als in jenen, die in Abwesenheit von PIBF gezüchtet worden waren. Weitere Untersuchungen zeigten ein positives Verhältnis zwischen asymmetrischem Antikörpergehalt der Sern und der PIBF-Expression auf Lymphozyten. Weiters verringerte die Blockierung der Progesteron-Rezeptoren durch RU 486 oder die Neutralisierung endogener PIBF-Aktivität durch spezifische anti-PIBF-Antikörper, die Produktion asymmetrischer Antikörper bei trächtigen Mäusen ganz wesentlich.

[0007] Maligne Tumoren, d.h. Krebsarten, sind in allen entwickelten Ländern nach Herzerkrankungen die zweite Haupttodesursache und treten bei einer von drei Personen auf. Eine von je vier Personen stirbt an Krebs. Krebs ist vor allem durch eine Zunahme der Anzahl der abnormalen oder neoplastischen Zellen gekennzeichnet, die von einem normalen Gewebe stammen, welches sich zur Bildung einer Tumormasse vermehrt, durch die Invasion benachbarter Gewebe durch diese neoplastischen Tumorzellen, und durch die Erzeugung maligner Zellen, welche über das Blut oder das Lymphsystem zu regionalen Lymphknoten und zu entfernten Stellen gelangen. Letzteres Fortschreiten zur Malignität wird als Metastase bezeichnet.

[0008] Krebs kann aus dem Zusammenbrechen der Kommunikation zwischen neoplastischen Zellen und ihrer Umgebung, einschließlich ihrer normalen Nachbarzellen, entstehen. Sowohl wachstumsstimulierende als auch als wachstumshemmende Signale werden routinemäßig zwischen Zellen innerhalb eines Gewebes ausgetauscht.

[0009] Normalerweise teilen sich Zellen bei Fehlen stimulierender Signale nicht, und in gleicher Weise hören sie bei Vorliegen von Hemmsignalen auf, sich zu teilen. Im Krebs- oder neoplastischen Zustand erwirbt eine Zelle die Fähigkeit, sich über diese Signale hinwegzusetzen und sich unter Bedingungen, unter welchen normale Zellen nicht wachsen würden, zu vermehren.

[0010] Tumorzellen müssen eine Reihe verschiedener fehlerhafter Merkmale erwerben, um sich zu vermehren. Diese Anforderung wird durch die Tatsache belegt, dass die Genome bestimmter gut untersuchter Tumoren mehrere verschiedene, unabhängig voneinander veränderte Gene aufweisen, einschließlich aktivierter Onkogene und inaktivierter Tumor-Suppressor-Gene. Jede dieser genetischen Veränderungen scheint dafür verantwortlich zu sein, einige dieser Merkmale, die insgesamt den kompletten neoplastischen Phänotyp repräsentieren, zu verleihen.

[0011] Tumorzellen tragen Antigene, die als für den Körper fremd erkannt werden können, und es ist eine der Hauptfunktionen des Immunsystems, solche Zellen zu eliminieren, bevor sie große Tumoren bilden können. Diese Immunüberwachung ist bei Patienten mit fortschreitend malignen Erkrankungen deutlich wirkungslos. Eine Reihe von Schutzmaßnahmen wurde identifiziert, die eine Eigenreaktivität supprimiert, und die eine Hauptbarriere in der Fähigkeit des Immunsystems, Tumorzellen auszulöschen, darstellen kann. Es gibt eine Reihe von Mechanismen, die von Tumorzellen ausgeübt werden, wie 1. die Nichtexpression klassischer und die Expression nicht-klassischer, selbstidentifizierender Klasse I-MHC-Moleküle (wie HLA-G), welche die Tötungswirkung der (Tumor)Antigen-spezifischen Klasse I-MHC-eingeschränkten CTLs unterminiert; 2. eine Tendenz zu T_{H2} -Reaktionen, wobei die T_{H1} -Helferfunktion und folglich wirksame cytotoxische Antitumorreaktionen supprimiert werden; und 3. die Produktion immunsuppressiver Faktoren, die lokale und systemische Immunreaktionen niederregulieren (beispielsweise verringert die Sekretion von TGF- β die T-Zellen-Proliferation und die Cytotoxizität die Expression von fas-Ligand, die eine Apoptose von CTLs induziert). Als Resultat dieser kumulativen Wirkungen haben die Tumoren einen immunologisch privilegierten Zustand und wachsen ohne oder mit einer eingeschränkten Kontrolle durch das Immunsystem.

[0012] Es ist ziemlich genau erwiesen, dass viele pathologische Zustände, wie Infektionen, Krebs, Autoimmunerkrankungen, usw. durch die ungünstige Expression bestimmter Moleküle gekennzeichnet sind. Diese Moleküle dienen somit als "Marker" für einen bestimmten pathologischen oder abnormalen Zustand. Abgesehen von ihrer Verwendung als diagnostische "Ziele", d.h. Materialien, die zur Diagnose dieser abnormalen Zustände zu identifizieren sind, dienen die Moleküle als Reagentien, die verwendet werden können, um diagnostische und/oder therapeutische Mittel zu erzeugen.

[0013] Ein Ziel der vorliegenden Erfindung ist ein neues Verfahren zur Diagnostizierung eines Tumors bei einem Patienten, das leicht und sicher durchführbar ist, welches Verfahren keine High-Tech-Geräte erfordert, dem Patienten keine besonderen Unannehmlichkeiten verursacht, das rasch durchführbar ist und Ergebnisse bringt, die eine Unterscheidung zwischen einem Patienten mit einem Tumor und einem gesunden Patienten erlauben.

[0014] Ein weiteres Ziel der vorliegenden Erfindung ist die Bereitstellung eines Sets zur Durchführung des

Verfahrens zur Diagnostizierung eines Tumors bei einem Patienten.

[0015] Noch ein weiteres Ziel der vorliegenden Erfindung ist die Bereitstellung eines wirksamen Anti-Tumor-Medikaments.

[0016] Das Verfahren gemäß der vorliegenden Erfindung zur Diagnostizierung eines Tumors bei einem Patienten, mit welchem das obige Ziel erreicht wird, umfasst das Entnehmen einer Probe vom Patienten, das Messen der Konzentration des PIBF (Progesteroninduzierten Blockierungs-Faktors) oder eines Derivats davon oder eines Fragments davon in der Probe und das Bestimmen, ob die Konzentration des PIBF in der Probe über oder unter einem vorbestimmten Schwellenwert liegt, wobei die Konzentration über dem Schwellenwert einen Patienten mit einem Tumor identifiziert.

[0017] Während der Charakterisierung von PIBF als wichtiges immunmodulierendes Molekül für die Aufrechterhaltung der Schwangerschaft zeigte es sich überraschenderweise, dass Tumorzellen PIBF oder PIBF-verwandte Substanzen exprimieren, wogegen bei angrenzenden normalen Geweben keine oder nur eine geringe PIBF-Reaktivität feststellbar ist. Dies deutet darauf hin, dass PIBF bei der Entwicklung oder Aufrechterhaltung der immunologischen Toleranz gegenüber bösartig transformierten Zellen eine Rolle spielt und daher einen nützlichen Marker für Tumorzellen bildet.

[0018] Daher macht sich das Verfahren gemäß der vorliegenden Erfindung die Tatsache zu Nutze, dass die Konzentration von PIBF in einer Probe, die vom zu testenden Patienten genommen worden ist, höher ist als die Konzentration von PIBF in einer Probe, die von einer gesunden Person genommen wurde.

[0019] Im Rahmen der vorliegenden Erfindung kann die vom Patienten genommene Probe jede Art von Probe, die flüssig oder auch nicht ist, sein und kann von praktisch jedem Teil des Körpers stammen. Die Konzentration des PIBF kann gemäß jedem auf diesem Gebiet bekannten Verfahren, das die Quantifizierung der Konzentration von PIBF in einer Probe ermöglicht, gemessen werden. Diese kann chemische, mikrobiologische, physikalische Techniken, Färbung etc. auf Flüssigkeiten, Gewebeproben usw. umfassen. Zu den möglichen Methoden zählen in vivo-Bildgebung mittels Computer-Tomograph (CT) und Magnetresonanz-Bild (Magnetic Resonance Image, MRI) nach Markierung mit Radionuklein- bzw. paramagnetischen (z.B. Gadolinium-)Markierungen usw..

[0020] Da der PIBF Stoffwechsel- oder anderen Veränderungen im Körper des Patienten unterworfen sein kann, kann der PIBF Modifikationen aufweisen, je nach dem, welche Probe vom Patienten genommen wurde. Der PIBF kann beispielsweise gespalten worden sein, so dass nur ein Fragment des PIBF in der vorhandenen Probe vorliegt. Der PIBF kann weiters so modifiziert worden sein, dass ein Derivat des PIBF in dieser Probe vorliegt oder auch ein Fragment dieses Derivats. Es zeigte sich auch, dass alternativ prozessierte PIBF-mRNA in Tumorzellen in einer im Vergleich zu normalen Zellen anderen Konzentration vorliegen, und deshalb sind aus diesen anderen Formen der mRNA-Moleküle oder deren Fragmenten translatierte Proteine oder Fragmente ebenfalls vom Ausdruck „Fragmente“ mit umfasst. Daher kann auch das PIBF-Derivat oder ein Fragment des PIBF oder des PIBF-Derivats oder PIBF-verwandte Substanzen (wie beispielsweise ein gespaltenes Produkt von 34 kDa oder ein alternativ gespleißtes 14 kDa-Produkt) als Indikation der Konzentration des PIBF im Patienten verwendet werden, und daher kann die jeweilige Konzentration für das Verfahren zur Diagnostizierung eines Tumors bei einem Patienten gemäß der vorliegenden Erfindung verwendet werden.

[0021] Im Rahmen der vorliegenden Erfindung bezieht sich der Ausdruck „PIBF oder Fragmente davon“ – ohne darauf eingeschränkt zu sein – auf Sequenzen gemäß SEQ.ID.NO.: 1, 3, 4, 6, 8, 10, 14, 15, 17, 19, 20, 23, 25, 27, 29, 31, 32, 34 und 36 oder Fragmente oder Derivate davon. Daher sind Beispiele für PIBF oder Fragmente davon, die gemäß der vorliegenden Erfindung detektiert oder quantifiziert werden können, diese oben erwähnten Sequenzen. Da es sich gezeigt hat, dass die Exons 17 und 18 in fast allen mRNA-Formen inkludiert sind, die identifiziert wurden, werden PIBF-Fragmente, welche die Exons 17 und 18 (vgl. die Figuren) umfassen, vorzugsweise für die Detektion oder Quantifizierung von PIBF in einer Probe verwendet.

[0022] Im Rahmen der vorliegenden Erfindung kann das Fragment des PIBF oder des PIBF-Derivats beispielsweise weniger als 715 Aminosäuren, vorzugsweise weniger als 500 Aminosäuren, noch mehr bevorzugt weniger als 200 Aminosäuren, und am meisten bevorzugt weniger als 50 Aminosäuren, umfassen.

[0023] Im Rahmen der vorliegenden Erfindung umfasst der Ausdruck "Derivat" beispielsweise alle natürlichen oder selbst nicht natürlich auftretenden Modifikationen, z.B. Spaltung, Glykosylierungen, Methylierungen, Acetylierungen, Amidierungen, Phosphorylierungen, Sulfatierungen, Deletionen, Substitutionen, etc..

[0024] Im Rahmen der vorliegenden Erfindung bezieht sich auch "Schwellenwert" auf einen Konzentrationswert, der im Allgemeinen die mittlere Probenkonzentration von PIBF bei gesunden Probenspendern sein wird. Es ist möglich, eine bekannte allgemeine mittlere PIBF-Konzentration bei gesunden Menschen gemäß der Literatur zu nehmen oder auch die Probenkonzentration von PIBF bei gesunden Spendern bei der Durchführung der vorliegenden Erfindung zu bestimmen. Der Schwellenwert kann auch bei gesunden (normalen) Proben bestimmt werden, die früher (im gesunden Zustand) von derselben Person entnommen wurden. Beispiele für solche Schwellenwerte können beispielsweise zwischen 1 und 10 ng/ml, vorzugsweise zwischen 1 und 5 ng/ml, sein, wobei die Konzentration vom Detektionsverfahren sowie vom Typ des Tumors abhängt. Weiters kann der Schwellenwert Null sein, wenn alternativ prozessierte PIBF-mRNA-Produkte nur in Tumorzellen und nicht in gesunden Zellen vorhanden sind. Daher hängt der Schwellenwert auch vom PIBF-Molekül ab und muss für jedes spezifische PIBF-Molekül individuell bestimmt werden.

[0025] Bei der Bestimmung des Schwellenwertes ist es jedoch wichtig, dass die Probe von der gesunden Person nicht von einer schwangeren Frau genommen wird, da die PIBF-Konzentration bei Proben von schwangeren Frauen höher ist als die PIBF-Konzentration in Proben nicht-schwangerer Frauen.

[0026] Die PIBF-Konzentration, die in der vom Patienten entnommenen Probe gemessen wird, welche über dem vorbestimmten Schwellenwert liegt, identifiziert Individuen mit einem Verdacht auf einen Tumor. Ein "Tumor", wie hierin verwendet, bezeichnet jedes neoplastische Zellwachstum und jede Vermehrung, sei sie bösartig oder gutartig, und alle vor-karzinösen und karzinösen Zellen und Gewebe.

[0027] Unter den Ausdruck "Patient" fallen im Rahmen der vorliegenden Erfindung Patienten mit einem Tumor, jedoch auch Patienten, die für einen Tumor anfällig sind, sowie gesunde Menschen, die sich einer allgemeinen Routineuntersuchung unterziehen. Natürlich kann der Ausdruck „Patient“ auch jedes Tier, insbesondere eine Maus, eine Ratte, ein Meerschweinchen, einen Affen mit umfassen, welches Tier vorzugsweise ein Labortier ist, das für Analysen verwendet wird, z.B. für die Detektion spezifischer Tumoren, das Testen von Anti-Tumor-Substanzen oder von karzinogenen Substanzen. Weiters kann das Tier ein genetisch modifiziertes Tier sein, das eine Prädisposition für Tumoren aufweist.

[0028] Da die Schwangerschaft auch zu erhöhten PIBF-Mengen führt, müssen sexuell aktive Frauen mittels herkömmlicher Schwangerschaftstests (z.B. auf Grund von hCG) getestet werden, bevor sie als Patienten mit einem Tumor angesehen werden. Es bedeutet auch, dass es sehr schwierig ist, diesen Test zur Detektion von Tumorwachstum zu benutzen, wenn der Patient eine schwangere Frau ist, die über das erste Trimester hinaus ist. Da jedoch ein beträchtlicher Teil der mit einer Schwangerschaft in Beziehung stehenden Malignitäten mit dem unkontrollierten Wachstum von Schwangerschafts-bezogenen Geweben zu tun hat (wie Trophoblastenzellen bei Mola hydatidosa), könnten extrem hohe PIBF-Mengen (> 150-200 ng/ml) ein Tumorwachstum mit oder ohne Vorhandensein eines lebensfähigen Babys anzeigen.

[0029] Vorzugsweise ist der Tumor, der mit dem Verfahren gemäß der vorliegenden Erfindung diagnostiziert werden soll, ein epitheliales Carcinom. Da die überwiegende Mehrzahl der Human-Tumoren (bezogen auf die weltweiten Sterblichkeitsdaten) epitheliale Carcinome sind (Lunge, Brust, Colon, usw.), ist das Verfahren gemäß der vorliegenden Erfindung für die Diagnose dieser Art von Tumor besonders vorteilhaft.

[0030] Das epitheliale Carcinom ist vorzugsweise ein Lungen-Carcinom, Colon-Carcinom, bzw. ein Brust-Carcinom. Die PIBF-Konzentration bei Proben, die von Patienten mit den oben erwähnten Tumoren entnommen wurden, ist besonders hoch im Vergleich zu PIBF-Konzentrationen in Proben von gesunden Patienten. Daher identifiziert, wenn das Verfahren gemäß der vorliegenden Erfindung zur Diagnostizierung eines der oben erwähnten Tumoren verwendet wird, eine Konzentration, die über dem Schwellenwert liegt, Individuen mit einem Verdacht auf einen Tumor. Eine Konzentration, die unter dem Schwellenwert liegt, schließt in bestimmten Fällen jedoch nicht unbedingt das Vorhandensein eines Tumors aus.

[0031] Gemäß einer vorteilhaften Ausführungsform der vorliegenden Erfindung ist die Probe eine Körperflüssigkeit, vorzugsweise Harn bzw. Serum. Dies ermöglicht eine sehr einfache Art der Probennahme vom Patienten, ohne jeglichen chirurgischen Schritt und ohne die Notwendigkeit spezifischer High-Tech-Instrumente. Die Körperflüssigkeit kann in jedem Labor oder selbst im Heim des Patienten entnommen werden und ist besonders vorteilhaft für eine Routinediagnose, eine Diagnose bei einem Patienten, der sehr schwach ist, und für regelmäßige Überprüfungen des Fortschreitens des Tumors bei einem Patienten. Die PIBF-Konzentration kann beispielsweise mittels einer Trockenchemie-Methode, z.B. mit einem Streifen, der seine Farbe je nach der PIBF-Konzentration in einer Probe, in die er eingetaucht wird, ändert, gemessen werden.

[0032] Alternativ ist die Probe eine Gewebeprobe. Obwohl die Entnahme dieser Art von Probe aus dem Patienten nicht so einfach ist wie das Nehmen einer Körperflüssigkeit, ermöglicht ein Verfahren gemäß der vorliegenden Erfindung, bei welchem eine Gewebeprobe vom Patienten verwendet wird, die direkte Lokalisierung des Tumors, insbesondere, wenn verschiedene Gewebeproben entnommen und miteinander verglichen werden. Weiters ist es möglich, die Progression des Tumors direkt zu verfolgen. Außerdem kann das Verfahren gemäß der vorliegenden Erfindung durch Detektion der Gewebe mit einem Tumor weiters zumindest als ein zusätzliches Verfahren zur Entscheidung, ob Gewebe und welche Teile eines Körpers des Patienten chirurgisch entfernt werden müssen; verwendet werden.

[0033] Gemäß einer bevorzugten Ausführungsform der vorliegenden Erfindung ist der Schwellenwert die Konzentration des PIBF in einer Probe einer gesunden Person. Natürlich ist der Schwellenwert besonders präzise, wenn er die mittlere Konzentration des PIBF einer Mehrzahl von Proben von gesunden Personen ist.

[0034] Vorzugsweise wird der Schwellenwert durch Messen der Konzentration des PIBF in einer Probe mindestens einer gesunden Person parallel zur Bestimmung der Konzentration des PIBF in einer Probe des Patienten bestimmt. Da die gemessene Konzentration vom Verfahren der Messung der PIBF-Konzentration abhängt, ist die Diagnose spezifischer und exakter, wenn das Verfahren zur Messung der PIBF-Konzentration in der Probe des Patienten und in der Probe der gesunden Person identisch ist. Um die Sensitivität des Verfahrens weiters zu erhöhen, werden die Probe des Patienten und die Probe der gesunden Person vorzugsweise parallel gemessen, z.B. zur selben Zeit, um jegliche störende Parameter, z.B. Temperatur, Puffer, etc., die einen Einfluss auf das Ergebnis haben, zu eliminieren. Die Probe der gesunden Person wird vorzugsweise parallel als "Negativprobe" gemessen.

[0035] Vorteilhaft wird als positive Kontrolle die Konzentration des PIBF oder eines Derivats davon oder eines Fragments davon in einer Probe, die eine bestimmte Konzentration von PIBF oder eines Derivats davon oder eines Fragments davon aufweist, parallel zur Bestimmung der PIBF-Konzentration in der Probe des Patienten gemessen. Die Parallel-Messung der positiven Kontrolle ermöglicht es, die Ergebnisse zu kontrollieren und jegliche Divergenz im Verfahren festzustellen.

[0036] Vorzugsweise wird die PIBF-Konzentration in der Probe immunologisch, insbesondere durch einen kompetitiven Test, einen Sandwich-Test, Ummunfärbung oder Kombinationen dieser Methoden gemessen. Jedes immunologische Verfahren, das dem Fachmann bekannt ist, kann angewendet werden. Immunologische Verfahren sind sehr sensitive Verfahren zur Detektion von Molekülen und daher zur Messung der PIBF-Konzentration in der Probe besonders vorteilhaft. Um das immunologische Verfahren durchzuführen, ist es notwendig, mindestens einen anti-PIBF-Antikörper zu haben, der spezifisch an PIBF, Derivate davon oder Fragmente davon, bindet. Der Antikörper kann monoklonal oder polyklonal sein und kann weiters rekombinant sein. Weiters können humanisierte monoklonale oder durch Phagen codierte monoklonale Einzelketten-Antikörper verwendet werden.

[0037] Beispiele für rekombinante monoklonale anti-human-PIBF-Antikörper, die wie oben beschrieben verwendet werden können, sind in der Hybridom-Zellbank an der Medizinischen Fakultät der Universität Pécs, Abteilung für Immunologie und Biotechnologie, Ungarn, unter den Hinterlegungsnummern 11 bis 14/2001, Zelllinien-Codes HYB 255-258, hinterlegt.

[0038] "Einzelketten-Antikörper" sind strukturell so definiert, dass sie den Bindungsteil eines ersten Polypeptids aus der variablen Region eines Antikörpers in Verbindung mit dem Bindungsteil eines zweiten Polypeptids aus der variablen Region eines Antikörpers umfassen, wobei die beiden Polypeptide durch einen Peptid-Linker verbunden sind, der das erste und das zweite Polypeptid zu einer einzigen Polypeptidkette verbindet. Die einzige Polypeptidkette umfasst somit ein Paar variabler Regionen, die durch einen Polypeptid-Linker verbunden sind. Die Regionen können sich zur Bildung einer funktionalen Antigen-Bindungsstelle verbinden, wie in jenem Fall, in welchem die Regionen ein variables Regionen-Paar mit einer leichten Kette und einer schweren Kette mit entsprechend paarweisen komplementären Bestimmungsregionen (complementary determining regions, CDRs) umfassen.

[0039] Der Ausdruck "humanisierter Antikörper", wie hierin verwendet, bedeutet Antikörper-Moleküle, in welchen Aminosäuren in den bekannten Antigenbindungsreagenzien zwecks größerer Ähnlichkeit mit einem humanen Antikörper ersetzt wurden, wobei jedoch die ursprüngliche Bindungsfähigkeit erhalten bleibt.

[0040] Die Antikörper können unter Verwendung von Verfahren, die auf diesem Gebiet wohlbekannt sind, erzeugt werden. Zu solchen Antikörpern zählen, ohne auf diese eingeschränkt zu sein, polyklonale, monoklona-

le, rekombinante, chimäre, Einzelketten-(single chain)-Antikörper, Fab-Fragmente und Fragmente, die von einer Fab-Expressionsbibliothek erzeugt wurden. Neutralisierende Antikörper (d.h. jene, die die Dimer-Bildung hemmen) sind zur therapeutischen Verwendung besonders bevorzugt.

[0041] Für die Herstellung von Antikörpern können verschiedene Wirte, einschließlich Ziegen, Kaninchen, Ratten, Mäuse, Hühner (Yab), Menschen und andere, durch Injektion mit natürlichem oder rekombinantem PIBF-Protein oder jedem Fragment oder Oligopeptid desselben, das immunogene Eigenschaften aufweist, oder einer PIBF-DNA (Fragment) immunisiert werden. Je nach der Wirts-Spezies können verschiedene Adjuvantien zur Steigerung der immunologischen Reaktion verwendet werden. Zu solchen Adjuvantien zählen, ohne auf diese eingeschränkt zu sein, Freund'sches Adjuvans, Mineralgele, wie Aluminiumhydroxid, und grenzflächenaktive Substanzen, wie Lysolezithin, Pluronic-Polyole, Polyanione, Aluminium, Polykationen (z.B. polyArg), Peptide, Ölemulsionen, Schlüsselloch-Napfschnecken-Haemocyanin (keyhole limpet hemocyanin) und Dinitrophenol. Unter den bei Menschen verwendeten Adjuvantien sind BCG (Bacilli Calmette-Guerin) und Corynebacterium parvum besonders bevorzugt.

[0042] Es ist bevorzugt, dass die Peptide, Fragmente oder Oligopeptide, die zur Induktion von Antikörpern gegen PIBF verwendet werden, eine Aminosäuresequenz aufweisen, die aus mindestens fünf Aminosäuren und, mehr bevorzugt, mindestens 10 Aminosäuren besteht. Es ist auch bevorzugt, dass sie identisch mit einem Teil der Aminosäuresequenz des natürlichen Proteins sind. Kurze Abschnitte von PIBF-Aminosäuren können mit jenen eines anderen Proteins, wie dem Schlüsselloch-Napfschnecken-Haemocyanin fusioniert werden, und Antikörper gegen das chimäre Molekül werden erzeugt.

[0043] Monoklonale Antikörper gegen PIBF können unter Verwendung jeder Technik, die eine Erzeugung von Antikörper-Molekülen durch kontinuierliche Zelllinien in Kultur vorsieht, hergestellt werden. Zu diesen zählen die Hybridom-Technik, die Human-B-Zellen-Hybridom-Technik und die EBV-Hybridom-Technik, ohne jedoch auf diese eingeschränkt zu sein.

[0044] Außerdem können Techniken, die für die Herstellung "chimärer Antikörper" entwickelt wurden, das Spleißen von Maus-Antikörper-Genen zu humanen Antikörper-Genen zum Erhalt eines Moleküls mit entsprechender Antigen-Spezifität und biologischer Aktivität verwendet werden. Alternativ können Techniken, die für die Erzeugung von Einzelketten-Antikörpern beschrieben wurden, adaptiert werden, wobei Verfahren des Standes der Technik verwendet werden, um PIBF-spezifische Einzelketten-Antikörper zu erzeugen. Antikörper mit verwandter Spezifität, jedoch mit einer unterschiedlichen idiotypischen Zusammensetzung, können durch das Mischen von Ketten ("chain shuffling") aus randomisierten kombinatorischen Immunglobulin-Bibliotheken erzeugt werden.

[0045] Antikörper können auch durch Induktion einer in vivo-Produktion in der Lymphozyten-Population oder durch Screenen rekombinanter Immunglobulin-Bibliotheken oder von Gruppen hochspezifischer Bindungs-Reagenzien erzeugt werden.

[0046] Antikörper-Fragmente, die spezifische Bindungsstellen für PIBF enthalten, können ebenfalls hergestellt werden. Beispielsweise zählen zu diesen Fragmenten, ohne auf diese eingeschränkt zu sein, die F(ab')₂-Fragmente, die durch Pepsin-Verdau des Antikörper-Moleküls erzeugt werden können, und die Fab-Fragmente, die durch Reduktion der Disulfid-Brücken der F(ab')₂-Fragmente erzeugt werden können. Alternativ können Fab-Expressions-Bibliotheken konstruiert werden, um eine rasche und einfache Identifizierung monoklonaler Fab-Fragmente mit der gewünschten Spezifität zu ermöglichen.

[0047] Verschiedene Immunoassays können zum Screenen verwendet werden, um Antikörper mit der gewünschten Spezifität zu identifizieren. Zahlreiche Protokolle für kompetitive Bindungs- oder immunradiometrische Tests unter Verwendung entweder polyklonaler oder monoklonaler Antikörper mit etablierten Spezifitäten sind auf dem Gebiet wohlbekannt. Zu solchen Immunoassays gehört typischerweise die Messung der Komplex-Bildung zwischen PIBF und seinem spezifischen Antikörper. Ein Zwei-Stellen-Immunoassay auf monoklonaler Basis unter Verwendung monoklonaler Antikörper, die gegenüber zwei voneinander unabhängigen PIBF-Epitopen reaktiv sind, ist bevorzugt, doch kann ein kompetitiver Bindungs-Test ebenso verwendet werden.

[0048] Bei einer bevorzugten Ausführungsform wird die Konzentration des PIBF in der Probe durch einen kompetitiven Test gemessen. Gemäß diesem Verfahren wird eine feste Phase mit vorzugsweise rekombinantem Human-PIBF (oder seinen Varianten) mit einer spezifischen Konzentration bedeckt. Markierte anti-PIBF-Antikörper werden zusammen mit den zu messenden Beispielen zugegeben. Je höher die PIBF-Kon-

zentration in der Probe ist, desto niedriger ist der entsprechende detektierte Wert. Auf Grund dieser Ablesungen kann die absolute Konzentration des PIBF bestimmt werden. Dies ist ein besonders präzises Verfahren, insbesondere, wenn die Probe eine Körperflüssigkeit ist, und kann beispielsweise mittels ELISA durchgeführt werden.

[0049] Gemäß einer weiteren bevorzugten Ausführungsform der Erfindung wird die Konzentration des PIBF in einer Probe mittels eines Sandwich-Tests gemessen. Für diesen Test muss man zwei anti-PIBF-Antikörper haben, die jeder an ein anderes Epitop des PIBF-Moleküls binden. Der erste anti-PIBF-Antikörper ist vorzugsweise an einem festen Träger immobilisiert, wonach die zu messende Probe zugegeben wird, so dass der in der Probe vorhandene PIBF an den ersten anti-PIBF-Antikörper bindet. Ein zweiter anti-PIBF-Antikörper, der vorzugsweise markiert ist, wird zugegeben, so dass er an den gebundenen PIBF bindet. Die Menge des gebundenen zweiten anti-PIBF-Antikörpers wird gemessen und als Angabe für die absolute Konzentration des PIBF in der Probe verwendet. Auch dieses Verfahren wird vorzugsweise verwendet, wenn die zu messende Probe eine Körperflüssigkeit des Patienten ist, und kann mittels ELISA durchgeführt werden.

[0050] Gemäß einer anderen bevorzugten Ausführungsform der vorliegenden Erfindung wird die Konzentration des PIBF in einer Probe mittels Immunfärbung ("immunostaining") gemessen. Dieses Verfahren wird vorzugsweise dann verwendet, wenn die zu messende Probe eine Gewebeprobe des Patienten ist. Gemäß diesem Verfahren wird der anti-PIBF-Antikörper direkt zur Gewebeprobe des Patienten zugegeben, wo er an den in der Gewebeprobe vorhandenen PIBF bindet. Der gebundene Antikörper wird dort durch direkte Anzeige der Konzentration des PIBF in der Gewebeprobe quantifiziert. Dieses Verfahren ermöglicht die Lokalisierung von PIBF in einer Probe.

[0051] Vorzugsweise wird die PIBF-Konzentration indirekt gemessen, durch Messung der Konzentration von PIBF-mRNA in der Probe. Dazu können Polynukleotide, einschließlich Oligonukleotid-Sequenzen, antisense-RNA- und -DNA-Moleküle und PNAs verwendet werden. Die Polynukleotide können zur Detektion und Quantifizierung der Gen-Expression in Proben verwendet werden, in welchen die Expression von PIBF mit einem Tumor korreliert. Demgemäß kann ein Set bereitgestellt werden, welches ein Reagens umfasst, das die oben erwähnten (markierten) Polynukleotide aufweist, um eine PIBF-mRNA-Messung in der bestimmten Probe durchzuführen. Hier ist es wiederum weiters bevorzugt, die Konzentration alternativ prozessierter mRNA zu messen. Auch das Vorhandensein oder Fehlen eines spezifischen mRNA-Moleküls kann Informationen dahingehend liefern, ob die Zellen Tumorzellen sind oder nicht.

[0052] Gemäß einem Aspekt kann die Hybridisierung mit Nukleotid-Sonden zur Identifizierung von PIBF-mRNA-Sequenzen verwendet werden. Nukleotid-Sequenzen, die zur PIBF-mRNA komplementär sind, können mittels Standardmethoden markiert werden und unter Bedingungen, die für die Bildung von Hybridisierungskomplexen geeignet sind, zu einer Flüssigkeits- oder Gewebeprobe eines Patienten zugegeben werden. Nach einer geeigneten Inkubationsdauer wird die Probe gewaschen, und das Signal wird quantifiziert und mit dem Schwellenwert verglichen.

[0053] Die Spezifität der Sonde, ob sie aus einer hochspezifischen Region oder aus einer weniger spezifischen Region hergestellt ist und die Stringenz der Hybridisierung (maximal, hoch, mittel oder niedrig) bestimmen, ob die Sonde nur natürlich vorkommende Sequenzen, die für PIBF codieren, Allele, oder verwandte Sequenzen identifiziert.

[0054] Sonden, die für die Hybridisierung von PIBF-mRNA (verwandten) Sequenzen verwendet werden, sollten vorzugsweise eine mindestens 50%, vorzugsweise 70%, noch mehr bevorzugt 90%, Homologie mit der PIBF-codierenden Sequenz oder Fragmenten davon aufweisen. Die Hybridisierungssonden der vorliegenden Erfindung können DNA oder RNR sein und von der Nukleotid-Sequenz der SEQ. ID.NO.3 oder 5 (PIBF-cDNA) stammen.

[0055] Beispiele für solche nachzuweisende und/oder zu quantifizierende PIBF-mRNA-Moleküle sind z.B. jene, die durch DNA oder RNA nachgewiesen werden, welche von der Nukleotid-Sequenz der SEQ. ID.NO. 5, 7, 9, 11, 12, 13, 16, 18, 21, 22, 24, 26, 28, 30, 33, 35 und 37 stammt. Da es sich gezeigt hat, dass die Exons 17 und 18 in fast allen mRNA-Formen, die identifiziert wurden, inkludiert sind, wird DNA oder RNA, die von einer für die Exons 17 und 18 codierenden Sequenz stammt (vgl. die Figuren), vorzugsweise für die Detektion oder Quantifizierung von PIBF-mRNA in einer Probe verwendet.

[0056] Hybridisierungssonden können mittels verschiedenster Marker-Gruppen markiert werden, beispielsweise Radionukliden, wie ³²P oder ³⁵S, oder enzymatischen Markierungen, wie alkalische Phosphatase, die

über Avidin/Biotin-Kopplungssysteme mit der Sonde gekoppelt ist, u.dgl..

[0057] Die für PIBF codierenden Polynukleotid-Sequenzen können weiters bei der Northern Blot-Analyse, Dot-Blot oder anderen Techniken auf Membran-Basis verwendet werden; bei Dip-Stick-, Pin, ELISA oder (Mikro)-Chip-Tests unter Verwendung von Flüssigkeiten oder Geweben aus Patienten-Biopsien zur Detektion von PIBF-mRNAs. Solche Methoden sind auf dem Gebiet wohl bekannt.

[0058] Zusätzlich kann PIBF-mRNA mittels RT-PCR detektiert und gemessen werden: In einem ersten Schritt wird die mRNA durch Revers-Transcriptase in cDNA transkribiert, wonach die cDNA detektiert und mittels PCR quantifiziert wird. Die Oligomeren für die PCR können chemisch synthetisiert, enzymatisch erzeugt, oder aus einer rekombinanten Quelle produziert sein. Oligomere bestehen vorzugsweise aus zwei Nukleotid-Sequenzen, einer mit sense- und einer anderen mit antisense-Orientierung, die unter optimierten Bedingungen zur Identifizierung der spezifischen Sequenz verwendet werden. Dieselben beiden Oligomeren, "nested" Sets von Oligomeren oder selbst ein degenerierter Pool von Oligomeren können unter weniger stringenten Bedingungen zur Detektion und/oder Quantifizierung nah verwandter Sequenzen verwendet werden.

[0059] Ein weiterer Aspekt der vorliegenden Erfindung betrifft ein Verfahren zur Bestimmung der positiven oder negativen Progression eines Tumors in einem Patienten, umfassend das Diagnostizieren eines Tumors bei einem Patienten gemäß einer der oben erwähnten Verfahren gemäß der vorliegenden Erfindung, und das Bestimmen, ob die gemessene Konzentration des PIBF oder eines Derivats davon oder Fragments davon in der Probe über oder unter mindestens einer zuvor gemessenen Konzentration des PIBF oder eines Derivats davon oder Fragments davon in mindestens einer zuvor vom selben Patienten entnommenen Probe ist, wobei eine Konzentration über der zuvor gemessenen Konzentration eine positive Progression identifiziert. Da die Konzentration des PIBF in einer Probe direkt proportional zur Progression des Tumors, z.B. Größe, Entwicklung etc. ist, ermöglicht das Verfahren gemäß der vorliegenden Erfindung eine direkte Analyse des Krankheitsverlaufs. Für eine vollständige Charakterisierung der Progression des Tumors ist es natürlich vorteilhaft, über einen Zeitraum viele Proben zu nehmen, insbesondere vor und nach einer spezifischen Behandlung, beispielsweise mit einer Substanz oder durch vollständiges oder teilweises Entfernen von Tumorgewebe, in welchem Fall die Wirksamkeit der spezifischen Behandlung analysiert werden kann. Der hierin verwendete Ausdruck "positive Progression" bedeutet, dass sich der Tumor weiterentwickelt.

[0060] Ein weiterer Aspekt der vorliegenden Erfindung betrifft die Verwendung eines anti-PIBF-Antikörpers oder eines Fragments desselben bei einem oben beschriebenen Verfahren gemäß der vorliegenden Erfindung. Wie voranstehend erwähnt, kann der anti-PIBF-Antikörper monoklonal, polyklonal, er kann weiters rekombinant, humanisiert oder ein durch Phagen codierter Einzelketten-Antikörper sein. Wenn nur ein Fragment des Antikörpers verwendet wird, umfasst dieses Fragment das Epitop des anti-PIBF-Antikörpers, welches den PIBF erkennt.

[0061] Es ist bevorzugt, einen monoklonalen Antikörper zu verwenden, um ein höchst spezifisches und präzises Ergebnis zu erreichen. Der monoklonale Antikörper kann, wie oben erwähnt, hergestellt werden, und die oben angeführten Beispiele gelten auch hier.

[0062] Ein weiterer Aspekt der vorliegenden Erfindung betrifft die Verwendung von PIBF oder eines Derivats davon oder eines Fragments davon bei einem der oben erwähnten Verfahren gemäß der vorliegenden Erfindung. Wie bereits voranstehend erwähnt, kann das Fragment ein Fragment des PIBF oder ein Fragment des PIBF-Derivats sein. Hier gelten dieselben Definitionen und bevorzugten Ausführungsformen oder Beispiele, wie oben erwähnt.

[0063] Vorzugsweise ist der PIBF rekombinant, was bedeutet, dass auch das Derivat oder das Fragment rekombinant sein kann.

[0064] Ein weiterer Aspekt der vorliegenden Erfindung betrifft ein Set, welches ein erstes Reagens, das mindestens einen anti-PIBF-Antikörper oder ein Fragment davon aufweist, und ein zweites Reagens, das PIBF oder ein Derivat davon oder ein Fragment davon in einer bestimmten Konzentration aufweist, umfasst. Natürlich sind der anti-PIBF-Antikörper und der PIBF in einer Form vorhanden, die deren Lagerung ermöglicht, z.B. in trockener, lyophilisierter, gefrorener oder gelöster Form. Weiters kann das Set jedwede weitere Puffer, Enzyme, Salze etc. aufweisen, die für die Durchführung des oben erwähnten Verfahrens notwendig sind.

[0065] Vorzugsweise umfasst das Set eine feste Phase, an welche der mindestens eine anti-PIBF-Antikörper oder das Fragment davon oder der PIBF oder das Derivat davon oder das Fragment davon gebunden ist. Die

festen Phase kann jede dem Fachmann auf diesem Gebiet bekannte feste Phase sein, z.B. jedes unlösliche Material, das ein Substrat darstellen kann, auf welchem man die Proteine oder Peptide immobilisieren kann, beispielsweise in Form eines trockenen Streifens. Zu solchen Substraten können Nylon, Aminosäuren, Glas, Cellulose u.dgl. zählen. Das Set kann vorzugsweise für einen kompetitiven oder für einen Sandwich-Test verwendet werden, wobei das weitere Reagens, das entweder den Antikörper oder den PIBF aufweist, je nachdem, welcher an der festen Phase immobilisiert ist, und die Probe zur festen Phase zugegeben werden.

[0066] Vorzugsweise ist der im oben erwähnten Set vorhandene PIBF rekombinant, was natürlich bedeutet, dass auch das Derivat davon bzw. das Fragment davon rekombinant sind.

[0067] Ein bevorzugtes Set umfasst ein weiteres Reagens mit einem zweiten anti-PIBF-Antikörper oder einem Fragment davon, welches an ein Epitop des PIBF bindet, das von dem vom ersten anti-PIBF-Antikörper oder dessen Fragment erkannten Epitop verschieden ist. Dieses Set ist besonders vorteilhaft, um einen Sandwich-Test durchzuführen.

[0068] Das oben erwähnte Set gemäß der vorliegenden Erfindung dient vorzugsweise zur Diagnostizierung eines Tumors bei einem Patienten bzw. zur Feststellung der Progression eines Tumors bei einem Patienten. Die Verfahren sind dieselben, wie oben beschrieben, wobei das Reagens, das den PIBF oder ein Derivat davon oder ein Fragment davon in der bestimmten Konzentration aufweist, entweder als positive Kontrolle, wie oben beschrieben, oder zur Durchführung eines kompetitiven Tests, wie oben beschrieben, (wobei es in Konkurrenz zum in der Probe des Patienten vorhandenen PIBF verwendet wird) oder für beides verwendet wird.

[0069] Ein weiterer Aspekt der vorliegenden Erfindung betrifft die Verwendung eines anti-PIBF-Antikörpers oder eines Fragments davon zur Herstellung eines anti-Tumor-Medikaments. Der anti-PIBF-Antikörper oder das Fragment davon bewirkt eine spezifische Blockierung oder Neutralisierung von PIBF, wodurch die PIBF-Aktivität in Tumoren spezifisch eliminiert wird und die Tumoren somit für NK (und potentiell für CD8+ und andere T-Zellen-vermittelte Lyse) empfänglich gemacht werden. Weiters können mono- und bispezifische Antikörper PIBF an der Oberfläche von Tumorzellen spezifisch erkennen und können verwendet werden, um toxische Substanzen an das tumoröse Kompartiment des Körpers des Patienten abzugeben. Die Hauptstrategie des anti-Tumor-Medikaments ist die Verwendung des Wissens, dass Tumorzellen höhere PIBF-Konzentrationen erzeugen. Mit dieser Information, die die Grundlage der vorliegenden Erfindung bildet, können verschiedene Strategien zur Bekämpfung eines Tumors bei einem Patienten entwickelt werden.

[0070] Gemäß einer bevorzugten Ausführungsform ist der Antikörper ein monoklonaler, humanisierter, bzw. Einzelketten-Antikörper. Die oben erwähnten hinterlegten Antikörper können auch für diesen Aspekt der vorliegenden Erfindung verwendet werden.

[0071] Vorzugsweise hat der Antikörper ein an ihm haftendes Molekül. In diesem Fall wird der anti-PIBF-Antikörper als Ziel- oder Abgabe-Mechanismus verwendet, um ein Molekül, z.B. ein pharmazeutisches Mittel, zu Zellen oder Geweben zu bringen, die PIBF exprimieren. Der Antikörper, der dem Patienten verabreicht wird, bindet an den PIBF exprimierenden Tumor und bringt dadurch das Molekül, das für den Tumor toxisch ist, in direkten Kontakt mit dem Tumor. Es gibt verschiedene Verfahren und Moleküle, die verwendet werden, die dem Fachmann auf diesem Gebiet bekannt sind. Beispielsweise kann ein toxisches Molekül verwendet werden, das in die Tumorzellen eindringt und beispielsweise in essentielle Stoffwechselschritte eingreift, wodurch es die Zellen tötet. Das toxische Molekül kann auch eine Zell-Lyse induzieren oder als Rezeptor für andere toxische Substanzen oder Enzyme dienen, die die tumorösen Zellen töten. Das Wichtigste ist jedoch, unabhängig von der Art, in welcher das toxische Molekül wirkt, dass das Molekül durch den anti-PIBF-Antikörper spezifisch zu den tumorösen Zellen geleitet wird und in gesunde Zellen nicht eingreift.

[0072] Das Molekül kann vorzugsweise eine toxische Substanz bzw. ein Prodrug sein, insbesondere ein Radionuklid, ein Toxin bzw. ein chemotherapeutisches Medikament. Durch Abgabe der Substanz an das tumoröse Ziel wird ein wirksames Anti-Tumor-Medikament erreicht.

[0073] Ein weiterer Aspekt der vorliegenden Erfindung betrifft die Verwendung des PIBF oder eines Derivats davon oder Fragments davon für die Herstellung eines Anti-Tumor-Medikaments. Gemäß der vorliegenden Erfindung gibt es zwei Strategien für diese Anti-Tumor-Medikamente:

- Ein PIBF-Derivat oder ein Fragment desselben wird als Hemm-Protein oder -Peptid verwendet, welches in die PIBF-Wirkung eingreift, indem es putative Rezeptoren für PIBF, die an Zellen, z.B. NK-Zellen, vorhanden sind, bindet und dadurch blockiert oder inaktiviert, oder Signal-gebende Komponenten stromabwärts der Rezeptor-Bindung inhibiert.

[0074] Gemäß einer bevorzugten Ausführungsform der vorliegenden Erfindung ist das Medikament ein Vakzin. Das PIBF-Derivat oder Fragment davon weist das immunogene Peptid von PIBF auf und kann zur Impfung verwendet werden, entweder um Antigen-spezifische cytotoxische Anti-Tumor-T-Zellen-Reaktionen zu induzieren und/oder um die Produktion neutralisierender Antikörper durch das Immunsystem des Krebspatienten selbst zu stimulieren, was die NK-Zellen von der Suppression durch PIBF befreien würde.

[0075] Vorzugsweise weist das Vakzin ein Adjuvans auf. Ein solches Adjuvans können beispielsweise, doch nicht ausschließlich, Freund'sche Mineral-Gele, wie Aluminiumhydroxid und grenzflächenaktive Substanzen, wie Lysolecithin, Pluronic-Polyole, Polyanione, Polykatione (z.B. polyArg), Peptide, Ölemulsionen, Schlüssel-loch-Napfschnecken-Haemocyanin und Dinitrophenol sein. Zu den bei Menschen vorzugsweise verwendeten Adjuvantien gehören BCG (Bacilli Calmette-Guerin) und Corynebacterium parvum. Vorzugsweise ist der PIBF oder das Derivat davon oder das Fragment davon rekombinant bzw. ein chemisch synthetisiertes Molekül.

[0076] Ein vorteilhafter Aspekt der vorliegenden Erfindung betrifft die Verwendung eines Polynukleotids, das für PIBF oder ein Derivat davon oder ein Fragment davon codiert, oder eines PIBF-antisense-Moleküls zur Herstellung eines Anti-Tumor-Medikaments. Im Rahmen der vorliegenden Anmeldung bezieht sich der Ausdruck „für PIBF codierendes Polynukleotid“ oder „zur PIBF-mRNA komplementäre Nukleotid-Sequenzen“ auf eine Sequenz, die von einer Sequenz abstammt, welche vorzugsweise ausgewählt ist aus der Gruppe bestehend aus SEQ.ID.NO. 3, 5, 7, 9, 11, 12, 13, 16, 18, 21, 22, 24, 26, 28, 30, 33, 35, 37 oder Fragmenten oder Derivaten davon.

[0077] Gene, die für PIBF codieren, können durch Transformation einer Zelle oder eines Gewebes mit Expressionsvektoren, die große Mengen eines Polynukleotids oder eines Derivats davon oder eines Fragments davon, das für PIBF codiert, abgeschaltet werden. Solche Konstrukte können verwendet werden, um untranslatierbare sense- oder antisense-Sequenzen in eine Zelle einzuführen. Selbst wenn keine Integration in die DNA vorliegt, können solche Vektoren weiterhin RNA-Moleküle transkribieren, bis sie durch endogene Nukleasen abgeschaltet werden. Eine vorübergehende Expression kann bei einem nicht-replizierenden Vektor einen Monat oder länger dauern und noch länger, wenn geeignete Replikationselemente Teil des Vektor-Systems sind.

[0078] Modifikationen der Gen-Expression sind durch Entwerfen von antisense-Molekülen, DNA, RNA oder PNA, zu den Steuerregionen des für PIBF codierenden Gens, d.h. der Promotoren, Enhancer und Introne, erhältlich. Oligonukleotide, die aus der Transkriptionsinitiierungsstelle stammen, z.B. zwischen den Positionen -10 und +10 ab der Start-Stelle, sind bevorzugt. In ähnlicher Weise kann eine Hemmung unter Verwendung der "Dreifach-Helix"-Basenpaarungs-Methodik erreicht werden. Dreifach-Helix-Paarung ist nützlich, weil es die Hemmung der Fähigkeit der Doppelhelix, sich für die Bindung von Polymerasen, Transkriptionsfaktoren oder regulierenden Molekülen genügend zu öffnen, bewirkt. Die antisense-Moleküle können auch so gestaltet werden, dass sie die Translation der mRNA blockieren, indem sie das Transkript hindern, an Ribosome zu binden.

[0079] Der Ausdruck "antisense", wie hierin verwendet, bezieht sich auf Nukleotid-Sequenzen, die zu einer spezifischen DNA- oder RNA-Sequenz komplementär sind. Antisense-Moleküle können mit jedem Verfahren hergestellt werden, einschließlich einer Synthese durch Ligieren des (der) Gens (Gene), an welchem (welchen) ein Interesse besteht, in umgekehrter Orientierung an einen Virus-Promotor, der die Synthese eines komplementären Stranges ermöglicht. Sobald er in eine Zelle eingeführt ist, vereinigt sich dieser transkribierte Strang mit den natürlichen, von der Zelle produzierten Sequenzen, um Duplexe zu bilden. Diese Duplexe blockieren dann entweder die weitere Transkription oder die Translation.

[0080] Gemäß einem Aspekt können antisense-Moleküle zu dem für PIBF codierenden Polynukleotid in Situationen verwendet werden, in welchen es wünschenswert wäre, die Transkription der mRNA zu blockieren. Insbesondere können Zellen mit Sequenzen transformiert werden, die zu für PIBF codierenden Polynukleotiden komplementär sind. So können antisense-Moleküle verwendet werden, um die PIBF-Aktivität zu modulieren, oder um eine Regulierung der Gen-Funktion zu erreichen. Eine derartige Technik ist auf dem Gebiet wohl bekannt, und sense- oder antisense-Oligomere oder größere Fragmente können von verschiedenen Orten entlang der Codier- oder Steuerregionen von Sequenzen, die für PIBF codieren, entworfen werden.

[0081] Expressionsvektoren, die von Retroviren, Adenovirus, Herpes- oder Vaccinia-Viren oder von verschiedenen Bakterien-Plasmiden stammen, können zur Abgabe von Nukleotid-Sequenzen an das angepeilte tumoröse Organ, Gewebe, oder die Zellpopulation verwendet werden. Verfahren, die dem Fachmann auf diesem Gebiet gut bekannt sind, können zur Konstruktion rekombinanter Vektoren verwendet werden, die antisense-Moleküle exprimieren, welche zu den Polynukleotiden des für den PIBF codierenden Gens komplementär

sind.

[0082] Ribozyme, enzymatische RNA-Moleküle, können ebenfalls zur Katalyse der spezifischen Spaltung von RNA verwendet werden. Zum Mechanismus der Ribozym-Wirkung gehört die Sequenz-spezifische Hybridisierung des Ribozym-Moleküls an eine komplementäre Ziel-RNA, gefolgt von endonukleolytischer Spaltung. Beispiele, die verwendet werden können, umfassen hergestellte Hammerkopf-Motiv-Ribozym-Moleküle die die endonukleolytische Spaltung von Sequenzen, die für PIBF codieren, spezifisch und effizient katalysieren können.

[0083] Spezifische Ribozym-Spaltungsstellen innerhalb jedes potentiellen RNA-Zieles werden anfangs durch Scannen des Ziel-Moleküls auf Ribozym-Spaltungsstellen, die die folgenden Sequenzen inkludieren, identifiziert: GUA, GUU und GUC. Sobald sie identifiziert sind, können kurze RNA-Sequenzen von zwischen 15 und 20 Ribonukleotiden, entsprechend der Region des Ziel-Gens, das die Spaltstelle enthält, im Hinblick auf sekundäre Strukturmerkmale, die das Oligonukleotid inoperabel machen könnten, bewertet werden. Die Eignung der Anwärter-Ziele kann auch durch Testen der Zugänglichkeit zu einer Hybridisierung mit komplementären Oligonukleotiden unter Verwendung von Ribonuklease-Schutz-Tests evaluiert werden.

[0084] Antisense-Moleküle und -Ribozyme der Erfindung können mit jedem Verfahren, das auf dem Gebiet für die Synthese von Nukleinsäuremolekülen bekannt ist, hergestellt werden. Zu diesen zählen Techniken zur chemischen Synthetisierung von Oligonukleotiden, wie die chemische Festphasen-Phosphoramidit-Synthese. Alternativ können RNA-Moleküle durch in vitro- und in vivo-Transkription von DNA-Sequenzen, die für PIBF codieren, erzeugt werden. Solche DNA-Sequenzen können in vielerlei Vektoren mit geeigneten RNA-Polymerase-Promotoren, wie T7 oder SP6, inkorporiert werden. Alternativ können diese cDNA-Konstrukte, die antisense-RNA konstitutiv oder induzierbar synthetisieren, in Zelllinien, Zellen oder Gewebe eingebracht werden.

[0085] RNA-Moleküle können modifiziert werden, um die intrazelluläre Stabilität und die Halbwertszeit zu erhöhen. Zu den möglichen Modifikationen zählen, ohne jedoch auf diese beschränkt zu sein, die Addition von flankierenden Sequenzen am 5'- und/oder 3'-Ende des Moleküls oder die Verwendung von Phosphorthioat oder 2'-O-Methyl anstelle von Phosphodiesterase-Bindungen innerhalb des Molekül-Gerüsts. Dieses Konzept wohnt der Produktion von PNAs inne und kann in allen diesen Molekülen erweitert werden durch den Einschluss nicht-traditioneller Basen, wie Inosin, Queosin und Wybutosin sowie Acetyl-, Methyl-, Thio- und ähnlich modifizierter Formen von Adenin, Cytidin, Guanin, Thymin und Uridin, die von endogenen Endonukleasen nicht so leicht erkannt werden.

[0086] Viele Methoden zur Einführung von Vektoren in Zellen oder Gewebe sind verfügbar und gleichermaßen zur Verwendung in vivo, in vitro und ex vivo geeignet. Für die ex vivo-Therapie können Vektoren in Stammzellen eingefügt werden, die dem Patienten entnommen wurden und klonal vermehrt wurden zwecks autologer Re-Transplantation in denselben Patienten (allogene Stammzellen-Transplantation). Ein Einbringen durch Transfektion und durch Liposom-Injektionen kann unter Verwendung von Verfahren, die auf diesem Gebiet wohl bekannt sind, erreicht werden.

[0087] Jedes der oben beschriebenen Anti-Tumor-Medikamente kann an jedem geeigneten Subjekt, einschließlich beispielsweise Säugern, wie Hunden, Katzen, Kühen, Pferden, Kaninchen, Affen und, am meisten bevorzugt, Menschen, angewendet werden.

[0088] Ein weiterer Aspekt der vorliegenden Erfindung ist ein Verfahren zur Behandlung eines Patienten mit einem Tumor, wobei das Verfahren die Verabreichung einer wirksamen Menge eines anti-PIBF-Antikörpers oder eines Fragments davon an den Patienten umfasst.

[0089] In zwei Veröffentlichungen (Szekeres-Bartho et al., Am.J.Reprod. Immuno. 24, 105, 1990; Szekeres-Bartho et al., Cell.Immunol.177, 194, 1997) wurde nachgewiesen, dass die Zugabe von neutralisierendem anti-PIBF-Antikörper bei Mäusen ein erfolgreiches Schwangerschaftsergebnis stört. Außerdem verhinderte PIBF, isoliert aus Kulturüberständen von mit Progesteron behandelten Maus-Lymphozyten bei Injektion in vivo die abortive Wirkung von Anti-Progesteron-Medikamenten. Diese Daten lassen darauf schließen, dass diese Reagenzien auf ähnliche Weise bei Patienten mit Krebs oder mit Autoimmunerkrankungen wirken könnten.

[0090] Ein weiterer Aspekt der vorliegenden Erfindung betrifft ein Verfahren zur Behandlung eines Tumors bei einem Patienten, wobei dieses Verfahren die Verabreichung einer wirksamen Menge von PIBF oder eines Derivats davon oder eines Fragments davon umfasst.

[0091] Ein anderer bevorzugter Aspekt der vorliegenden Erfindung betrifft ein Verfahren zur Behandlung eines Tumors bei einem Patienten, wobei das Verfahren die Verabreichung einer wirksamen Menge eines Polynukleotids, das für PIBF oder für ein Derivat davon oder ein Fragment davon oder für PIBF-antisense-Molekül codiert, umfasst.

[0092] Ein anderer Aspekt der vorliegenden Erfindung betrifft ein pharmazeutisches Präparat zur Behandlung eines Tumors bei einem Patienten, wobei das Präparat einen anti-PIBF-Antikörper oder ein Fragment davon, PIBF oder ein Derivat davon oder ein Fragment davon, und von Polynukleotid codierten PIBF oder ein Derivat davon oder ein Fragment davon bzw. ein PIBF-antisense-Molekül umfasst. Dabei gelten hier natürlich wiederum dieselben Definitionen und bevorzugten Ausführungsformen, wie oben erwähnt.

[0093] Das pharmazeutische Präparat kann alleine oder in Kombination mit mindestens einem anderen Mittel, wie einer stabilisierenden Verbindung, verabreicht werden, welche in jedem sterilen, biokompatiblen pharmazeutischen Träger verabreicht werden kann, einschließlich – doch nicht ausschließlich – Kochsalzlösung, gepufferte Kochsalzlösung, Dextrose und Wasser. Die pharmazeutischen Präparate können alleine oder in Kombination mit anderen Mitteln, Arzneistoffen oder Hormonen einem Patienten verabreicht werden. Die für das Verfahren zur Behandlung eines Tumors bei einem Patienten verwendeten pharmazeutischen Präparate können auf zahlreichen Wegen verabreicht werden, einschließlich – jedoch nicht ausschließlich – oral, intravenös, intramuskulär, intraarteriell, intramedullär, intrathekal, intraventrikulär, transdermal, subkutan, intraperitoneal, intranasal, enteral, topisch, sublingual oder rektal.

[0094] Zusätzlich zu den aktiven Ingredienzien können diese pharmazeutischen Zusammensetzungen geeignete pharmazeutisch akzeptable Träger, einschließlich Exzipienten und Hilfsstoffe, aufweisen, die die Verarbeitung der aktiven Verbindungen zu Präparaten, die pharmazeutisch verwendet werden können, erleichtern. Die Träger ermöglichen die Formulierung der pharmazeutischen Präparate als Tabletten, Pillen, Dragees, Kapseln, Flüssigkeiten, Gele, Sirups, Aufschlammungen, Suspensionen u.dgl..

[0095] Gemäß einem anderen Aspekt betrifft die vorliegende Erfindung auch ein rekombinantes Protein mit einer PIBF-Aktivität gemäß SEQ.ID.NO 1 und Derivate davon. Dieses PIBF-Protein gemäß der vorliegenden Erfindung besitzt die volle PIBF-Aktivität, vergleichbar natürlichem PIBF (umfassend die Sequenz gemäß SEQ.ID.NO. 2), weist jedoch nicht die exakten Aminosäuren 595 bis 614 sowie die Aminosäure Nr. 333 gemäß der natürlichen PIBF-Sequenz (SEQ.ID.NO. 2) auf. Die Proteinsequenz des rekombinanten PIBF-Proteins gemäß der vorliegenden Erfindung (SEQ.ID.NO. 1) umfasst 757 Aminosäurereste. Die vorliegende Erfindung sieht daher neue rekombinante PIBF-Proteine mit der SEQ.ID.NO. 1 oder Derivate oder Homologe davon vor. Daher umfasst das rekombinante Protein mit einer PIBF-Aktivität gemäß der vorliegenden Erfindung

- die Aminosäure-Sequenz gemäß SEQ.ID.NO. 1, oder
- eine Aminosäure-Sequenz mit einer Aminosäure-Identität von mindestens 98% mit der Sequenz gemäß SEQ.ID.NO. 1, wie mittels FAST/A-Algorithmus bestimmt, oder
- eine Aminosäuresequenz mit einer Aminosäure-Identität von mindestens 95% mit der Sequenz von Aminosäurerest 580 bis 630 von SEQ.ID.NO.1, wie mittels FAST/A-Algorithmus bestimmt, und
- eine PIBF-Aktivität von mindestens 50% des natürlichen humanen PIBF-Moleküls.

[0096] Die PIBF-Aktivität kann als NK- oder CTL-Hemmung definiert und quantifiziert werden. Eine NK-Hemmung wird angenommen, wenn in Gegenwart von PIBF die ansonsten effizienten Effektor-Zellen (in Abwesenheit von PIBF getestet) paralytisch sind, d.h. entweder die Erkennung und Bindung (Konjugation) oder die Tötung der Ziel-Zellen als Folge der PIBF-Konzentration verringert ist. Die Aktivität kann als Prozent Inhibition/ μ g PIBF oder ähnlicher Substanzen im Vergleich zu keinem PIBF ausgedrückt werden. Dies gilt in ähnlicher Weise für CTL-Hemmaktivität (Szekeres-Bartho et al., Cell.Immunol.177 (1997), 194-199), Szekeres-Bartho et al., Am.J.Reprod.Immunol. 24, 105, (1990)). Weiters kann die PIBF-Aktivität als Th2-Verstärkung, die durch Quantifizierung von Th2 (IL-3, IL-4, IL-6, IL-10)- zu Th1(IL-12, IFN- γ)-Lymphokinen entweder auf Protein- oder auf mRNA-Ebene gemessen wird, und nachfolgende Feststellung des Verhältnisses der Th2-Signale zu den Th1-Signalen, definiert und quantifiziert werden. Eine Zunahme der Th2- und eine gleichzeitige Abnahme der Th1-Cytokine zeigen eine Th2-Verstärkung an. Sie kann als Steigerung des Prozentsatzes von Th2-Cytokin-positiven oder eine Abnahme im Prozentsatz von Th1-Cytokin-positiven peripheren mononuklearen Blutzellen (peripheral blood mononuclear cells, PBMCs)/ μ g PIBF ausgedrückt werden. Man kann auch die absoluten Mengen dieser Cytokine (gemäß Standardmethoden aus der Literatur), die in den Kulturüberstand oder in Körperflüssigkeiten sezerniert werden, als eine Funktion der PIBF-Konzentration messen. Die Cytokin-mRNAs können mittels Standard-Quantifizierungstests auf RT-PCR-Basis, Szekeres-Bartho et al., AJRI 35 (1996), 348-351, Szekeres-Bartho et al., Am.J.Reprod.Immunol. 23, 26, (1990), Szekeres-Bartho et al., Am.J.Ob.Gyn. 163, 1320 (1990) gemessen werden.

[0097] Trotz der wesentlichen Unterschiede in der Aminosäuresequenz des PIBF-Proteins gemäß der vorliegenden Erfindung im Vergleich zur natürlichen humanen PIBF-Sequenz ist es möglich, ein rekombinantes Protein mit einer Sequenz, wie oben definiert (SEQ. ID.NO.1) zu erzeugen, welches rekombinante Protein besonders große funktionelle Ähnlichkeiten mit dem natürlichen Protein aufweist.

[0098] Gemäß einer bevorzugten Ausführungsform der vorliegenden Erfindung weist das rekombinante Protein eine Aminosäure-Sequenz, wie durch die Aminosäurereste 300 bis 350 in SEQ.ID.NO. 1 angegeben, auf. Die Aminosäure Nr. 333 im natürlichen Human-PIBF-Protein (SEQ.ID.NO 2) ist Cys anstelle von Arg im rekombinanten PIBF-Protein gemäß der vorliegenden Erfindung (SEQ.ID.NO. 1). Daher weist das rekombinante Protein gemäß der vorliegenden Erfindung vorzugsweise ein Arg als Aminosäure Nr. 333 gemäß SEQ. ID.NO.1 und eine beträchtliche PIBF-Aktivität (>50%) auf. Es kann jedoch entweder an einem oder an beiden Enden weitere Aminosäurereste aufweisen, die mit den Aminosäureresten in SEQ. ID.NO.1 identisch, homolog zu diesen oder von diesen verschieden sind, solange das rekombinante Protein eine PIBF-Aktivität von mindestens 50% des natürlichen Human-PIBF-Moleküls hat.

[0099] Gemäß einer bevorzugten Ausführungsform der vorliegenden Erfindung weist das rekombinante Protein eine Aminosäuresequenz, wie durch die Aminosäurereste 580 bis 630 in SEQ.ID.NO.1 angegeben, und eine beträchtliche PIBF-Aktivität (>50%) auf. Dieses rekombinante Protein weist daher die Sequenz des erfindungsgemäßen PIBF zwischen den Aminosäureresten 580 bis 630 in SEQ. ID.NO.1 auf. Es kann weiters entweder an einem oder an beiden Enden weitere Aminosäurereste aufweisen, die mit den Aminosäureresten in SEQ.ID.NO.1 identisch, homolog zu diesen oder von diesen verschieden sind, solange das rekombinante Protein eine PIBF-Aktivität von mindestens 50% eines natürlichen Human-PIBF-Moleküls hat.

[0100] Gemäß einem weiteren Aspekt der vorliegenden Erfindung ist ein Protein mit PIBF-Aktivität vorgesehen, welches umfasst:

- die Aminosäuresequenz gemäß SEQ.ID.NO. 4 oder
- eine Aminosäure mit einer Aminosäure-Identität von mindestens 90%, mehr bevorzugt mindestens 95%, am meisten bevorzugt 99% mit der Sequenz gemäß SEQ.ID.NO. 4, wie mittels FAST/A-Algorithmus bestimmt. Es zeigte sich, dass dieses Protein ein aus einer Maus isoliertes 89-kDA-Protein mit einer PIBF-Aktivität ist. Diese Aminosäuresequenz ist besonders vorteilhaft im Hinblick auf Aspekte der Detektion, Diagnostizierung und Analyse von Tumoren, Antitumor-Substanzen, karzinogenen Substanzen bei Mäusen, aber auch bei anderen Labor-Tieren. Weiters können mit Hilfe dieses erfindungsgemäßen Proteins Tests an Tieren, z.B. Mäusen, Meerschweinchen, Hamstern, Ratten, durchgeführt werden, die eine Prädisposition für einen Tumor haben. Ein anderer Aspekt betrifft Tiere, insbesondere Mäuse, bei welchen dieses Protein inhibiert oder seine Aktivität blockiert wird. Dies kann beispielsweise durchgeführt werden, indem Analoga von Bindungspartnern dieses Proteins vorgesehen werden.

[0101] Ein bevorzugter Aspekt der vorliegenden Erfindung betrifft ein Protein, das eine Aminosäuresequenz mit einer Identität von mindestens 85%, vorzugsweise mindestens 90%, mehr bevorzugt mindestens 95%, wie mittels FAST/A-Algorithmus bestimmt, mit einer Sequenz ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus SEQ.ID.NO. 6, 8, 10, 14, 15, 17, 19, 20, 23, 25, 27, 29, 31, 32, 34 und 36 aufweist, wobei dieses Protein ein alternativ prozessiertes PIBF-Protein ist. Es hat sich gezeigt, dass alternativ prozessierte mRNA-Moleküle in verschiedenen Geweben vorhanden sind und daher auch alternativ prozessierte Proteine exprimieren. Überraschenderweise liegen diese alternativ prozessierten Proteine in Tumorgeweben in einer im Vergleich zu gesunden Geweben anderen Konzentration vor. Dies kann vorteilhaft zur Detektion und Analyse von Tumoren in einer Probe verwendet werden, wobei besonders SEQ.ID.NO.6 und 8 bevorzugt sind, weil diese zwei kleinere, bei humanen Primär-Tumoren gefundene PIBF-Formen sind, SEQ.ID. NO.6 bei Magen-Adenocarcinom und SEQ.ID.NO.8 bei Endometrium-Adenocarcinom. Normale Gewebe-Gegenstücke derselben Patienten exprimierten keine nachweisbaren Mengen dieser PIBF-mRNA-Spleiß-Varianten. Es hat sich jedoch auch gezeigt, dass die Exons 17 und 18 bei fast allen identifizierten Formen inkludiert sind. Daher sind Peptide, die diese Exons aufweisen, besonders vorteilhaft. Der Ausdruck „alternativ gespleißte PIBF-Proteine“ bezieht sich auf Proteine, die von Proteinen mit PIBF-Aktivität hergeleitet sind.

[0102] Gemäß einem weiteren Aspekt sieht die vorliegende Erfindung ein Nukleinsäure-Molekül vor, das für das oben beschriebene rekombinante Protein mit einer PIBF-Aktivität gemäß der vorliegenden Erfindung codiert. Es ist natürlich weiters möglich, dass das Nukleinsäure-Molekül eine zusätzliche Sequenz aufweist, die für mindestens ein zweites Protein, das ein anderes als das PIBF-Protein ist, codiert, wodurch eine Nukleinsäure-Sequenz vorgesehen wird, die für ein Fusionsprotein codiert, das mindestens in einem Teil ein Peptid mit PIBF-Aktivität aufweist.

[0103] Was das Maus-Nukleinsäure-Molekül, z.B. SEQ.ID.NO. 5 oder ein Fragment davon, betrifft, so wird dies vorzugsweise zur Produktion von „knock-out“-Mäusen verwendet, z.B. von Mäusen, bei welchen die Expression des PIBF-Gens oder eines Fragments davon blockiert oder inhibiert ist. Dies geschieht beispielsweise, indem ein antisense-Maus-PIBF-Nukleinsäure-Molekül oder Fragment davon vorgesehen wird, welche Strategie oben beschrieben ist. Ein anderer Aspekt der vorliegenden Erfindung betrifft daher „knock-out“-Mäuse, die eine inhibierte oder reduzierte Expression des aktiven PIBF-Proteins aufweisen.

[0104] Vorzugsweise wird ein Nukleinsäure-Molekül vorgesehen, das für ein alternativ prozessiertes PIBF-Protein codiert, welches eine Nukleinsäuresequenz aufweist, die eine Identität von mindestens 80%, vorzugsweise mindestens 90%, noch mehr bevorzugt mindestens 95% hat mit

- einer Sequenz gewählt aus der Gruppe bestehend aus SEQ.ID.NO. 7, 9, 11, 12, 13, 16, 18, 21, 22, 24, 26, 28, 30, 33, 35 und 37 oder
- einer Sequenz, die unter stringenten Bedingungen mit einer der obigen Sequenzen hybridisiert, oder
- einer Sequenz, die infolge des genetischen Codes einer der obigen Sequenzen degeneriert ist.

[0105] Dies sind Nukleinsäuresequenzen, die alternativ gespleißten mRNA-Molekülen entsprechen, die man in verschiedenen Geweben findet, wobei insbesondere SEQ.ID.NO. 7 und SEQ.ID.NO. 9 sich auf alternativ gespleißte mRNA-Moleküle beziehen, die nur in Tumorgeweben gefunden wurden, während normale Gewebe diese mRNA-Sequenzen nicht aufwiesen. Daher sind insbesondere diese vorteilhaft, wenn Tumoren sowie gesunde Zellen und Gewebe detektiert oder analysiert werden.

[0106] Gemäß einem weiteren Aspekt betrifft die vorliegende Erfindung einen Nukleinsäure-Vektor, der eine erfindungsgemäße Nukleinsäure-Sequenz aufweist.

[0107] Wenn der oben erwähnte Vektor gemäß der vorliegenden Erfindung in einen geeigneten Wirt eingeführt wird, wird mRNA produziert, die einen RNA-Strang für die Translation eines rekombinanten Proteins mit PIBF-Aktivität gemäß der vorliegenden Erfindung oder ein erfindungsgemäßes Protein vorsieht.

[0108] Das Regulierungselement kann jedes geeignete Element sein, das dem Fachmann auf diesem Gebiet bekannt ist, insbesondere ein spezifischer Promotor, der gemäß dem spezifischen Wirt, in welchen der Vektor eingeführt werden soll, ausgewählt wird, um eine maximale Produktion an rekombinantem Protein zu erreichen. Das Regulierungselement kann weiters Enhancer aufweisen, die die Transkription verstärken.

[0109] Vorzugsweise weist der Nukleinsäure-Vektor weiters einen Selektionsmarker auf. Der Selektionsmarker kann jeder geeignete Marker sein, der dem Fachmann auf diesem Gebiet bekannt ist, um Zellen oder Wirtsorganismen zu selektieren, in welche der Vektor eingeführt worden ist. Solche Selektionsmarker können beispielsweise jedes Gen sein, das für ein Antibiotika-Resistenz vermittelndes Protein codiert, oder ein Gen, das für ein für den Zellstoffwechsel notwendiges Protein codiert, wobei die Zellen oder Wirtsorganismen, in die der oben erwähnte Vektor eingeführt werden soll, einen Mangel an diesem Protein aufweisen. Der Selektionsmarker kann weiters jedes Gen sein, das den Phänotyp der Zelle oder des Wirtsorganismus, die (der) den oben erwähnten Vektor aufgenommen hat, verändert, z.B. die Farbe.

[0110] Gemäß einem weiteren Aspekt betrifft die vorliegende Erfindung eine Zelle, welche den oben erwähnten Vektor gemäß der vorliegenden Anmeldung aufweist. Der Vektor kann in das Genom der Zelle integriert sein oder auch als exogene DNA im Cytoplasma vorhanden sein, solange die Transkription des komplementären Nukleinsäure-Moleküls vorgesehen ist. Im Rahmen der vorliegenden Erfindung umfasst der Ausdruck "Zelle" jede prokaryontische oder eukaryontische Zelle. Diese Zellen werden vorzugsweise zur Herstellung rekombinanter Proteine mit PIBF-Aktivität gemäß der vorliegenden Erfindung verwendet. Diese hergestellten rekombinanten Proteine können gemäß auf diesem Gebiet gut bekannter Verfahren isoliert und gereinigt und weiter verwendet werden, z.B. zur Herstellung pharmazeutischer Präparate, die rekombinante Proteine mit PIBF-Aktivität gemäß der vorliegenden Erfindung aufweisen.

[0111] Die Erfindung wird durch die folgenden Beispiele und Figuren genauer beschrieben, ist jedoch nicht auf diese beschränkt.

[0112] [Fig. 1](#) zeigt die Ausrichtung rekombinanter und (natürlicher) Maus-PIBF-Aminosäure-Sequenzen.

[0113] [Fig. 2](#) zeigt eine schematische Darstellung der Exons und Introns in der PIBF-Gen-Region auf Chromosom 13.

- [0114] [Fig. 3](#) zeigt einen Northern Blot zur Detektion von PIBF-mRNA in verschiedenen Geweben.
- [0115] [Fig. 4](#) zeigt die immunhistochemische Analyse eines humanen Primär-Tumors.
- [0116] [Fig. 5A–Fig. 5D](#) zeigen den Einfluss der anti-PIBF-Behandlung auf NK-Zell-Ziel-Tötung von Tumorzellen.
- [0117] Die [Fig. 6A–Fig. 6C](#) zeigen die Wirkung des rekombinanten PIBF auf IL-10- und IL-12-Expression von Nicht-Schwangerschafts-Lymphozyten.
- [0118] [Fig. 7](#) zeigt die PIBF-Mengen in Harnproben von Patienten mit Nicht-Adenocarcinom-Tumoren und nicht soliden Tumoren.
- [0119] [Fig. 8](#) zeigt die Detektion erhöhter PIBF-Mengen mit Hilfe monoklonaler und polyklonaler Antikörper.
- [0120] [Fig. 9](#) zeigt die Normalisierung der PIBF-Mengen nach Operation oder Chemotherapie.
- [0121] [Fig. 10](#) zeigt die verschiedenen, in humanen Primär-Tumoren überexprimierten PIBF-mRNAs.
- [0122] [Fig. 11](#) zeigt die PIBF-Bindung an humane PBMCs.
- [0123] [Fig. 12](#) zeigt alternativ gespleißte PIBF-mRNA.
- [0124] [Fig. 1](#) zeigt die Ausrichtung von rekombinantem (humanem) und Maus-(natürlichem) PIBF, wobei A die rekombinante Sequenz ist, B die IC-Maus-Sequenz (aus einer Maus-Hodenbibliothek kloniert) ist, C die EST-Maus, zusammengesetzt aus dEST-Bibliotheken auf Basis der Human-Sequenzen, ist und D die bovine Sequenz ist. X repräsentiert die Signal-Sequenz gemäß der PSG-Voraussagemethode, y die Signal-Sequenz gemäß der GvH-Voraussage, z das ER-Membran-Retentionssignal, w das Leucin-Zipp-Muster -DNA-Bindungsmotiv, v das peroxisomale Targeting-Signal und u das nukleare Lokalisations-Signal.
- [0125] Das PIBF-Gen befindet sich auf Chromosom 13. Eine Anzahl von Introns sind im PIBF-Gen vorhanden (vgl. [Fig. 2](#)), wobei in Intron 2 mehrfache Kopien des Alu-repeat-Elements vorhanden sind, das als Stelle für alternatives Spleißen dient. A zeigt eine Lücke zwischen genomischen "contigs".
- [0126] [Fig. 3](#) zeigt einen Northern Blot zur Detektion von PIBF-mRNA in verschiedenen normalen Geweben: Magen (A), Schilddrüse (B), Rückenmark (C), Lymphknoten (D), Luftröhre (E), Nebenniere (F), Knochenmark (G), Milz (H), Thymus (I), Prostata (J), Hoden (K), Uterus (L), Dünndarm (M), Kolon (N), PBL (O), Herz (P), Gehirn (Q), Plazenta (R), Lunge (S), Leber (T), Skelettmuskel (U), Niere (V), Pankreas (W). Die Pfeile in [Fig. 4](#) zeigen 3 verschiedene mRNA-Formen an.

Beispiel 1: ESTs-Eintragungen, die zur humanen PIBF-Sequenz passen

- [0127] EST-Eintragungen in Human-cDNA-Bibliotheken wurden gesucht, die zur humanen PIBF-Sequenz passen. 43 Eintragungen mit PIBF-Sequenzen wurden aus 2,2 Millionen dESTs, die in 3776 HumancDNA-Bibliotheken abgelegt waren, gefunden. Diese 43 Eintragungen gehören zu 27 verschiedenen Bibliotheken. 7 der 27 (25%) Bibliotheken stammen von normalen Geweben (von nicht-schwangeren Erwachsenen, ohne Tumor). Wichtig ist, dass Hoden, welcher ein immun-privilegiertes Gewebe ist, häufig die Anwesenheit von PIBF-mRNA anzeigte. 13 der 27 Bibliotheken enthalten mRNAs, die in tumorösen Geweben exprimiert wurden (~50%). Der Rest stammt von fötalem oder Schwangeren-Gewebe. Dies zeigt, dass PIBF vorzugsweise während der Entwicklung, Schwangerschaft und Malignität exprimiert wird. Die Anzahl der passenden ESTs kann jedoch mit dem mRNA-Überfluss korrelieren, hängt jedoch sehr von der Qualität der Bibliothek ab. Aus diesem Grund kann man sie nicht direkt als Maß für die Expressionsmenge ansehen (vgl. Tabelle I).

TABELLE I

	Hinterl. Nr.	Ursprung der cDNA-Bibliothek		
		Organ	embryonal, normal , Tumor	zusammenpassende Teile (nt)
1	AA099685	Uterus	normal , schwanger	860-1321
2	AI188926	Plazenta, gepoolt (2)	normal, 8.-9. Schwangerschaftswoche	2409-2763(87)
3	AI200713	Plazenta, gepoolt (2)	normal, 8.-9. Schwangerschaftswoche	2418-2763(86)
4	N27300	Plazenta, gepoolt (2)	normal, 8.-9. Schwangerschaftswoche	2367-2763(84)
5	N40036	Plazenta, gepoolt (2)	Normal, 8.-9. Schwangerschaftswoche	1657-2089(20)
6	AA251149	Tonsillen, Keimzentrum	normal - B-Zellen-angereichert	2440-2763(84)
7	AA251594	Tonsillen, Keimzentrum	normal - B-Zellen-angereichert	307-633
8	AA806027	Tonsillen, Keimzentrum	normal - B-Zellen-angereichert	1644-2025
9	AA610068	Hoden	normal	2455-2763(86)
10	AI126269	Hoden	normal	2385-2763(91)
11	AI758409	Niere, Gewebemasse Kid11	normal	2491-2763(83)
12	H64996	Nase (Olfac-Epithel)	normal (weiblich)	(75)1669-1837(98)
13	AW793587	Uterus (exp. ORFs) L	erwachsen	(224)1989-2346
14	AW818553	Magen ORF	erwachsen	2544-2667(8)
15	BE165549	Kopf-Nacken	erwachsen	1881-2264
16	AA913693	Lunge-Hoden-B-Zelle	normal + fötal (Lunge)	2501-2763(8)
17	AA971010	Lunge-Hoden-B-Zelle	normal + fötal (Lunge)	2531-2763(102)
18	AI014561	Lunge-Hoden-B-Zelle	normal + fötal (Lunge)	(41)1616-2116
19	AI222385	Lunge-Hoden-B-Zelle	normal + fötal (Lunge)	2361-2763(8)
20	AI809069	Lunge-Hoden-B-Zelle	normal + fötal (Lunge)	1644-2179
21	AW085186	Lunge-Hoden-B-Zelle	normal + fötal (Lunge)	2328-2763(86)
22	AW269537	Lunge-Hoden-B-Zelle	normal + fötal (Lunge)	2376-2763(83)
23	AW572968	Lunge-Hoden-B-Zelle	normal + fötal (Lunge)	2515-2616
24	AI350620	Gesamtkörper	Fötus (8-9 Wochen)	2565-2763(87)
25	D31319	Lunge, Gewebemasse	fötal	1394-1765
26	AA004593	Leber + Milz	fötal (20 Wochen)	(175)900-1019(54)
27	AI741044	5 gepoolte Bibliotheken *	fötal, Plazenta, Tumor	2349-2763(95)
28	AI808795	5 gepoolte Bibliotheken *	fötal, Plazenta, Tumor	2406-2725(146)
29	AW978222	Colon	Tumor, Metastase	1656-2135
30	AI254231	Colon	Adenocarcinom	(140)2482-2763(101)

	Hinterl. Nr.	Ursprung der cDNA-Bibliothek		
		Organ	embryonal, normal, Tumor	zusammenpassende Teile (nt)
31	AA307364	Colon, Zelllinie	Carcinom (HCC)	2017-2391(55)
32	AA603710	Keimzelle	Misch-Tumoren	2404-2763(84)
33	AI350870	Keimzelle	Mischtyp-Tumoren (3)	2511-2763(84)
34	AI990811	Keimzelle (GC_6)	gepoolte Tumoren	2283-2763(96)
35	AI278790	Lunge, neuroendokrin	karzinoid	2514-2763(92)
36	AI554801	Uterus, gepoolt (2) Ut3	Endometrium-Carcinom	2407-2763(88)
37	AI915158	Uterus, gepoolt (3) (ut2)	seröses Papill. cc. starkes Wachstum.	1714-1837(109)
38	AW273347	Uterus, gepoolt (2)	seröses Papill. cc. starkes Wachstum	1785-2311(50)
39	AW169084	Uterus, gepoolt (3) (ut2)	Endometrium-Carcinom	2200-2763(84)
40	AI769755	Niere, Pool von 2 Kid12	Tumor, hellzellig	2671-2763(403)
41	AW769371	Niere (Pool von 2) Kid13	Wilms'-Tumor (Pr. + Meta.)	2310-2763(102)
42	N59340	Gehirn (männlich)	Multiple Sklerose-Läsion	(102)2506-2763(83)
43	N77149	Gehirn (männlich)	Multiple Sklerose-Läsion	1858-2175(12)

Beispiel 2: Bestimmung der PIBF-Konzentration in Harnproben von Krebspatienten

[0128] Ein kompetitiver Test auf ELISA-Basis wurde zur Messung von PIBF im Harn von Krebspatienten erstellt. ELISA-Platten wurden mit rekombinantem Human-PIBF mit einer Konzentration von 2 µg/ml beschichtet. Mit Biotin markiertes polyklonales anti-PIBF-IgG wurde zusammen mit den Proben, deren PIBF-Gehalt bestimmt werden sollte, zugegeben. Je höher die PIBF-Konzentration in der Probe, desto niedriger ist der entsprechende ELISA-Wert. Auf Grund dieser ELISA-Ablesungen kann die absolute PIBF-Konzentration bestimmt werden.

[0129] Harnproben von Krebspatienten wurden genommen und frisch verwendet oder kurz nach der Probenahme gefroren und bei -20°C bis zur Analyse gelagert. Es wurde zuvor bestimmt, dass die PIBF-Mengen im Serum bei gesunden schwangeren Frauen bedeutend höher sind als die Mengen bei nicht-schwangeren Frauen oder bei pathologischen Schwangerschaften. Um den Test an Harn-PIBF von Krebspatienten auszuwerten, dienten Harnproben von gesunden schwangeren Frauen und von normal gesunden, nicht-schwangeren Individuen als positive bzw. negative Kontrollen. Die Ergebnisse sind in Tabelle II zusammengefasst. Normale (gesunde, nichtschwangere) Individuen haben niedrige Harn-PIBF-Konzentrationen (5 ng/ml). Der Harn schwangerer Frauen war durch eine durchschnittliche PIBF-Konzentration von 110 ng/ml gekennzeichnet. Es ist wichtig, dass hohe PIBF-Mengen nach einem Abortus oder Wehen rasch auf das normale Maß zurückkehrten. Eine Analyse der Harnproben von 65 Tumor-Patienten zeigte deutlich, dass Patienten mit einem Tumor eine wesentlich höhere Menge an PIBF in ihrem Harn aufwiesen als gesunde, nicht-schwangere Individuen, und zwar im Bereich von 5 bis 180 ng/ml. Patienten mit fortgeschrittenem Krebs (großer Primär-Tumor und/oder Metastasen) schienen höhere Werte zu haben, wofür als Beispiel die Daten von Harnproben von Patienten mit Lungentumor mit einer durchschnittlichen Konzentration von 28 gegenüber 43 ng/ml mit bzw. ohne Metastasen dienen.

[0130] Diese Daten zeigen, dass die PIBF-Konzentration in Beziehung zur Tumormasse steht, und der Nachweis von PIBF im Harn kann zur Überwachung der Krankheitsprogression und von Rückfällen verwendet werden. Der Anstieg der Harn-PIBF-Konzentration als Folge der Anwesenheit eines PIBF-produzierenden Tumors ist noch stärker, da nicht alle Tumor-Typen PIBF-positiv sind (~70-80% der bisher getesteten Tumoren).

[0131] Der am meisten vorherrschende Tumor-Typ unter den Patienten war Lungenkrebs mit 23 Fällen. Die

meisten der Lungenkrebs-Patienten wiesen eine hohe PIBF-Konzentration auf. Das Fehlen von hohem PIBF im Harn konnte mit dem klinischen Krankheitsstatus in Korrelation gesetzt werden, es waren nämlich die PIBF-Konzentrationen nach Entfernen des Primär-Tumors und im Remissionsstadium wesentlich niedriger oder sogar normal.

TABELLE II

Kontrolle (a)	Schwanger (b)	Drohende vorzeiti- ge Wehen (c)	Tumor-Patienten (e)	
n=48	n=23	n=19	n=65	
x=5,5+/-1,8	x=110+/-36	x=6+/-4,7	x=27,7+/-5,3	
			Lunge (n=23)	
a-b p<0,001	b-c <0,002		ohne Me- tastasen (n=12)	mit Meta- stasen (n=11)

			29,4	43,1
a-c NS				
a-d p<0,001				
a-e p<0,001				

Beispiel 3: Detektion von PIBF in Tumorgeweben

[0132] Nach dem Nachweis der PIBF-Expression mittels der MCF-7 (humanes Mamma-Epithelcarcinom)-Zelllinie wurde eine Reihe von humanen Primär-Tumoren auf die Expression von PIBF untersucht. Es zeigte sich, dass PIBF im Kulturüberstand von MCF-7-Zellen auftritt, was nahe legt, dass dieses Protein auf ähnliche Weise exprimiert und sezerniert wird, was man bei Kulturen von Lymphozyten von Schwangeren oder aktivierten Lymphozyten feststellte. Gemäß einer proteomischen Analyse erkennen anti-PIBF-Antikörper Proteine mit zwei verschiedenen Größen im Zelllysate durch 2D-Western-Analyse. Ein 34-kDa-Spot entspricht vermutlich der sezernierten Form. Ein weiteres großes, 60-62 kDa-Doublett wird nachgewiesen, welches die Zell-assoziierte Haupt-PIBF-Form sein könnte.

[0133] Eine Vielfalt von mit Formalin fixierten humanen Primär-Tumoren wurde ex vivo immunhistologisch untersucht unter Verwendung von polyklonalem Kaninchen-Antiserum, das durch Immunisierung mit humanem, natürlichem PIBF (34-kDa) oder rekombinantem PIBF (89-kDa) erzeugt worden war. Die Ergebnisse zeigen, dass viele der getesteten Tumor-Typen PIBF oder PIBF-verwandte Substanzen, z.B. PIBF-Moleküle verschiedener Länge, PIBF-Moleküle aus unterschiedlich gespleißter mRNA, trunkierte Moleküle, Fusionsproteine usw. exprimieren (Tabelle III). 15 der 27 Tumoren (55%) zeigten eine stark positive Färbung. Das Fehlen einer spezifischen Immunfärbung der Normalgewebe-Gegenstücke beweist, dass transformierte Tumor-Zellen PIBF differentiell exprimieren (vgl. [Fig. 4](#)). In der in [Fig. 4](#) linken, mit "A" bezeichneten Spalte ist das Normalgewebe gezeigt, in der rechten, mit "B" bezeichneten Spalte sind Tumorgewebe gezeigt. In der ersten (mit "1" bezeichneten) Reihe ist Lungenkrebs (kleine Zellen), in der zweiten (mit "2") bezeichneten Reihe ist Harnblasencarcinom (Übergangszelle), und in Reihe "3" ist Magenkrebs (Adenocarcinom) gezeigt. Diese Daten belegen auch, dass die PIBF-Positivität ein Ergebnis der Expression durch die Tumorzellen selbst ist, und nicht der Bindung von PIBF aus dem extrazellulären Fluid (von infiltrierenden Lymphozyten sezerniert).

TABELLE III

Organ	Gewebs- und Tumor-Typ	Anzahl PIBF-Positiver (Anzahl der Getesteten)
Magen	Adenocarcinom	1(2)
Gallenblase	Adenocarcinom	0(1)
Prostata	Adenocarcinom	0(1)
Colon	Adenocarcinom Primär-Tumor	1(1)
Ovarium	Cystadenocarcinom	2(3)
Schilddrüse	Carcinoma papillare	2(2)
Brust	Invasives duktales Carcinom	1(1)
Brust	Invasives lobuläres Carcinom	1(1)
Uterus	Cc. endometrioides	0(1)
Uterus	stromales Carcinom	0(1)
Uterus	Leiomyosarkom	0(1)
Septum nasi	Leiomyosarkom	0(1)
Haut	Melanom	0(2)
Haut	epitheliales Carcinom	1(1)
Lunge	epitheliales Carcinom	2(2)
Speiseröhre	Adenocarcinom	1(1)
Harnblase	Übergangszellen-Carcinom	1(1)
Metastase (Haut)	hellzelliges Nierencarcinom	0(1)
Metastase (Lymphknoten)	Plattenepithel	1(1)
Metastase (Lymphknoten)	Adenocc. coli	1(2)

[0134] Auf Grund der oben erwähnten Ergebnisse ist die PIBF-Produktion ein ganz allgemeines Phänomen des malignen oder undifferenzierten Zustands, und folglich kann PIBF als Tumor-Marker dienen.

Beispiel 4: Modulation der NK-Aktivität durch die Anwesenheit von PIBF

[0135] Wenn man alle Daten hinsichtlich der potentiellen Bedeutung von PIBF bei der Suppression von anti-Tumor-Reaktionen zusammennimmt, ist es plausibel, dass durch Tumorzellen erzeugter PIBF – sezerniert oder an der Zelloberfläche exprimiert – die Killerzellen-Aktivität systemisch oder lokal inhibieren wird. Es ist seit langem bekannt, dass es Zelllinien gibt, die bei NK-Tests gute Ziele sind, wogegen andere dies nicht sind. Die Human-Tumor-Zelllinie MCF-7 gehört zur Kategorie der schlechten Ziele. Es ist daher eine Möglichkeit, dass die niedrige Tötungsaktivität gegen diese Zellen das Ergebnis einer PIBF-Produktion ist, die die NK-Aktivität inhibiert, da die MCF-7-Zelllinie erwiesenermaßen PIBF produziert. Um diese Möglichkeit zu testen, wurden PIBF-exprimierende MCF-7-Zellen als Ziele in einem 4-stündigen Einzelzellen-Cytotoxizitäts-Test gemäß Grimm und Bonavida "Frequency determination of killer cells by a Single-cell cytotoxic assay"; Methods Enzymol. 93, 270 (1983) verwendet. In **Fig. 5** ist gezeigt, dass die anti-PIBF-Behandlung die gezielte Tötung von Tumorzellen durch NK-Zellen verstärkt: Das Minus und das Plus bedeuten die Behandlung mit oder ohne anti-PIBF-IgG, die Zahlen sind die Prozent der NK-Aktivität für **Fig. 5A** und **Fig. 5B** und die Prozent der Hemmung der NK-Aktivität für **Fig. 5C** und **Fig. 5D**. Die Quelle der NK-Zellen waren frisch isolierte PBMCs von gesunden Individuen. Tatsächlich steigerte die Behandlung dieser Tumor-Zellen mit anti-PIBF-IgGs ihre Empfindlichkeit gegenüber einer durch NK vermittelten Lyse drastisch, etwa 8-10fach (**Fig. 5A**). Die grundlegende Tötungsaktivität gegen MCF-7-Zellen ist sehr niedrig (1-2%), wogegen hohe Werte (50-80%) messbar sind, wenn K562-Zellen als Zielzellen in Paralleltests verwendet werden. Dieselbe anti-PIBF-Behandlung, die zur Steigerung der Zielaktivität von Tumorzellen wirksam zu sein scheint, hatte jedoch keine Wirkung auf eine Nicht-Tu-

mor-Zelllinie (McCoy, Human-Embryo-Fibroblasten) ([Fig. 5B](#)). Durch Charakterisierung repräsentativer Mitglieder (gute im Vergleich zu schlechten Zielen) beider Gruppen kann man eine Wechselbeziehung zwischen der Expression von PIBF- und NK-Zellaktivität aufstellen. Außerdem ermöglicht dieser Test die Untersuchung der Wirksamkeit von exogenem PIBF zur Verringerung der PIBF-Zielzellen-Tötung, und, was noch wichtiger ist, zur Beurteilung der Stärke neutralisierender anti-PIBF-Antikörper zur Stimulierung der Lyse von PIBF+ Tumorzellen. Neutralisierende Kaninchen-anti-Human- und auch -anti-Maus-Antiseren werden hergestellt, wobei diese polyklonalen Antikörper natürlichen PIBF in vitro (Human-Leukozyten-Kulturen im NK-Test) oder in vivo (trächtige Mäuse, als Tiermodell) inaktivieren können. Durch Zugabe von rekombinantem PIBF zu K562-Zellen (als Ziele) und PBMCs (als Quelle für NK-Zellen) war es möglich, die grundlegende Tötungsaktivität um 60-70% zu verringern ([Fig. 5C](#)). Antikörper, die gegen den rekombinanten PIBF erzeugt wurden, schalteten diese Inhibierung der Tötungsaktivität beinahe vollständig aus ([Fig. 5D](#)).

Beispiel 5: Modulierung des Cytokin-Gleichgewichts

[0136] Einer der Hauptmechanismen der die Schwangerschaft fördernden Wirkung von PIBF ist die Induktion der T_{H2} -Cytokine. Es gibt nun Beweise dafür, dass die rekombinante Form von PIBF auch wirksam ist, die Cytokin-Expression durch periphere Blutlymphozyten in vitro zu modulieren. Um die Funktionalität des rekombinanten Human-PIBF, der in *E. coli* exprimiert und mittels GST-Markierung gereinigt worden war, zu testen, wurde rPIBF zu von Nicht-Schwangeren stammenden peripheren Lymphozyten, die mittels Ficoll-Paque-Gradient isoliert und mit einer 10^6 /ml-Zelldichte gezüchtet worden waren, zugegeben. Die Erzeugung des Prototyps T_{H2} -Lymphokin, IL-10, wurde durch Detektion und Zählen der Anzahl IL-10-positiver Lymphozyten (mittels Immunhistochemie auf Cytospins) nach 24 h Behandlung gemessen. Die Prozent IL-10-positiver Lymphozyten nahm in Abhängigkeit von der rPIBF-Konzentration von 0,35 \pm 0,15 auf 3,5 \pm 1,5% zu. Bei der höchsten rPIBF-Konzentration (10 μ g/ml) waren 10x mehr IL-10-positive Lymphozyten vorhanden als in Kontroll-Kulturen ([Fig. 6A](#)). Die entgegengesetzte Wirkung war auf IL-12(T_{H1} -Lymphokin)-produzierenden Lymphozyten durch dieselbe Behandlung zu sehen. Die Anzahl IL-12-positiver Lymphozyten nahm in Abhängigkeit der PIBF-Konzentration ab, was zu einer etwa 8-fachen Verringerung bei der höchsten Menge an PIBF führte. Die Neutralisierung der Wirkung natürlichen PIBFs auf die Cytokin-Produktion war ebenso erfolgreich. Die 3-stündige Behandlung der Lymphozyten einer Schwangerschaft (PIBF produzierend) mit anti-PIBF-IgGs führte zu einer signifikanten Verringerung der Anzahl IL-10-positiver und einer signifikanten Zunahme der Anzahl IL-12-positiver Zellen ([Fig. 6B](#) und C). Diese Ergebnisse beweisen, dass die rekombinante PIBF-Form aktiv zur Induktion von T_{H2} -Cytokin-Expression ist. Von noch größerer Wichtigkeit ist, dass neutralisierende Antikörper aktiven PIBF, der durch Zellen in vivo erzeugt ist, entfernen und folglich T_{H1} -Cytokine verstärken können.

Beispiel 6: Diagnostischer Test

[0137] Der diagnostische Wert von Harn-PIBF-Mengen bei Malignitäten ist weiters beispielhaft veranschaulicht, indem Harnproben von Patienten mit Nicht-Adenocarcinom-Tumoren und nicht-soliden Tumoren verwendet werden ([Fig. 7](#)); die Punkte repräsentieren die Ergebnisse mit den einzelnen Seren. Die Durchschnittszahlen sind gezeigt. N bedeutet die Anzahl der Patienten.

Beispiele:

[0138] Verschiedene hämatologische Malignitäten, insbesondere Lymphome (LY, N:36) und auch Leukämien (Leu, N=18), Plasmocytome (PL, N=11) und myeloproliferative Erkrankungen (MOP, N=7) sind durch eine höhere als die normale Konzentration (Kontrolle C, N=86) des Harn-PIBF gekennzeichnet ([Fig. 7A](#)); A = alle Tumoren). Andere Beispiele sind Kopf- und Hals-Tumoren ([Fig. 7C](#)) und die Malignitäten des Harntrakts ([Fig. 7B](#)) + = mit Metastasen, N = 15; – = ohne Metastasen, N = 14. Es ist auch offensichtlich, dass die Masse des Tumorgewebes – das heißt Krankheit mit oder ohne Metastasen, Entfernung des Tumors – sich stark auf die PIBF-Konzentration auswirkt ([Fig. 7B, C](#)).

[0139] Die polyklonalen Antikörper werden in einem ähnlichen Antigen-"capture"-Sandwich-Test mit einem Paar in Mäusen erzeugter monoklonaler Antikörper (Ak) unter Verwendung des N-terminalen 48-kDa rPIBF als Antigen ersetzt. Etwa 20 verschiedene Hybridom-Klone wurden getestet, danach wurden vier stabile und gut produzierende Klone für den ELISA-Test und auch für andere diagnostische Methoden (Immunhistochemie) ausgewählt. Diese Hybridom-Klone sind an der Hybridom-Zellbank an der medizinischen Fakultät der Universität Pécs hinterlegt. (Die Hinterlegungsnummern sind 11-14/2001, Zelllinien-Codes: HYB255-258). Die erhöhten PIBF-Mengen in den Harnproben von Tumorpatienten werden mit den monoklonalen Antikörper-Paaren ähnlich den polyklonalen Antikörpern detektiert ([Fig. 8](#)), wobei C = Kontrolle, A = alle hämatologischen Tumoren, L = Lymphom, Leu = Leukämie, P = Plasmacytom, N = nicht definiert; Nr. = Anzahl der Patienten; POLY

= polyklonaler Antikörper, MONO = monoklonaler Antikörper.

[0140] Die übermäßigeren Daten verstärken nicht nur das diagnostische, sondern insbesondere das Tumor-Überwachungs-Potential von Harn- und Serum-PIBF-ELISA. Der Test kann auch einen therapeutischen Erfolg und Misserfolg nachweisen und vorhersagen, wie durch Normalisierung der PIBF-Mengen nach Operation oder Chemotherapie und einen signifikanten Anstieg bei Rückfall-Patienten gezeigt (**Fig. 9A**: hämatologische, B: Harnwegs-Tumoren) sowohl mit den polyklonalen als auch den monoklonalen anti-PIBF-Antikörpern, wobei C = Kontrolle, B = vor Behandlung, REL = Rückfall, REM = Remission.

Beispiel 7: Verschiedene Formen von PIBF

[0141] Zusätzlich zum humanen PIBF der gesamten Länge, wurden Maus-Gesamtlängen-PIBF-mRNA und Proteinsequenz identifiziert (SEQ. ID.Nr. 4, 5). Der Maus-PIBF ist ebenso in 18 Exons organisiert und weist eine Aminosäuren-Homologie von 89% auf.

[0142] Während des Versuchs, PIBF-mRNA-Mengen in normalen und Tumor-Geweben mit RT-PCR zu vergleichen, wurde eine Anzahl von alternativ gespleißten PIBF-mRNA-Formen entdeckt. Die Struktur der alternativ gespleißten mRNAs und die entsprechenden Protein-Produkte sind in Tabelle IV zusammengefasst. Alle die in einer Spezies identifizierten Formen können in anderen Spezies vorkommen und ähnliche Funktionen haben. Dies ist durch die homologen 35-kDa-PIBF-Protein-Formen beispielhaft angeführt. Mit Ausnahme einer Form von mRNA, die eine alternative Exon-14'-DNA enthält, welche eine Intron-Sequenz in der vorherrschenden prä-mRNA ist, wurden sie alle durch perfektes „Exon-skipping“ erzeugt, wobei mehrere Exons gegenüber der Gesamtlänge fehlen. Die Sequenzen der Exons 17 und 18 sind in fast allen identifizierten Formen inkludiert. Das lässt darauf schließen, dass die durch diese Exons codierten Aminosäuresequenzen für die PIBF-Funktion wesentlich sind. Außerdem führen mehrere mRNA-Formen mit verschiedenen Sequenzen zu diesem selben C-terminalen PIBF-Polypeptid mit vorhergesagtem Molekulargewicht von 10 kDa. Die trunkierten Formen des PIBF, die durch RT-PCR-Analysen von RNA-Proben identifiziert wurden, wurden aus verschiedenen Human- (SEQ.ID.NO. 6, Nr. 10-20) und Maus-Geweben und Zelllinien (SEQ.ID.NO. 8, 9, 23-37) isoliert.

[0143] Die verschiedenen PIBF-Formen sind verschieden exprimiert und haben verschiedene funktionelle Attribute.

Beispiele:

[0144] Die Gesamtlängen-mRNA (Exons 1-18) codiert für ein 89 kDa Kern-Protein. Die Bioinformatik sagt eine Kern-Kompartimentalisierung auf Basis von zwei Kern-Lokalisationssignalen in den Exons 7 und 13 voraus, und eine Nukleinsäure-bindende Domäne in den Exons 14-16. Gemäß Zell-Fraktionierung und Western Blot mit monoklonalen anti-PIBF-Antikörpern ist das 89 kDa-Protein tatsächlich ausschließlich in den Kern-Frakturen lokalisiert. Formen mit geringerem Molekulargewicht sind in den zytosolisch und sezernierten Fraktionen verschiedener Human- und Maus-Primär-Tumoren, Embryo und Zelllinien vorhanden.

[0145] Die Gesamtlängen-mRNA ist in fast allen Geweben auf Basis von Northern (**Fig. 3**) und RT-PCR-Analyse (**Fig. 10**) zu finden, jedoch in unterschiedlichen Mengen. Eine semiquantitative RT-PCR wurde an zusammenpassenden Tumor/Normalgewebe-Paaren durchgeführt. Dieselbe Menge an RNA wurde entweder mit PIBF-spezifischen Exon 1/Exon 18 (**Fig. 10A**) und Exon 2/Exon 18-Primer-Paaren (**Fig. 10B**) oder mit Ribosomen-Protein S9-spezifischen Primern (für die Beladungskontrolle) derselben Proben amplifiziert. Die Proben sind: 1 = Plazenta-cDNA, 2 = Magentumor, 3 = Magen normal, 4 = Uterus-Tumor, 5 = Uterus normal, 6 = neg. Kontrolle: ohne Matrize. Rasch wachsende Zellen, z.B. in Tumoren und im Embryo, Zellen von immun-privilegierten Geweben (Hoden, Plazenta) enthalten mehr Gesamtlängen-PIBF-mRNA. Die RT-PCR-Analyse humaner Primär-Tumoren und das nachfolgende Klonieren und die DNA-Sequenzierung von PIBF-cDNA zeigen, dass die alternativ prozessierten PIBF-mRNA-Formen unterschiedlich exprimiert werden. Dies ist durch zwei kleinere PIBF-Formen beispielhaft gezeigt, welche in humanen Primär-Tumoren gefunden wurden. Die Expression der Exon(1-5)-(17-18)-Form bei Magen-Adenocarcinom und jene der Exon 1-(13-18)-Form bei Endometrium-Adenocarcinom ist auf die Tumorgewebe beschränkt, da Normalgewebe-Gegenstücke von denselben Patienten keine nachweisbaren Mengen dieser PIBF-mRNA-Spleißvarianten exprimieren. Wichtig ist, dass man beide davon und andere alternativ prozessierte PIBF-mRNAs auch in Geweben von immun-privilegierten (Plazenta, Embryo, Hoden) und in Immun-Zellen findet.

[0146] Die Funktion des PIBF hängt auch von der Struktur der reifen Protein-Form ab. Eine der interessantesten Formen wird durch die Exons 2-3-4-5-17-18-mRNA codiert, die man häufig in Human- und Maus-Ge-

weben, wie humaner und Mäuse-Plazenta, humanen Lymphozyten, im Maus-Embryo und im humanen Magentumor findet. Sie codiert für ein 298 bzw. 297 Aminosäuren langes Polypeptid mit einem vorhergesagten Molekulargewicht von 35 kDa. (SEQ.ID.NO. 6, 7 für den Menschen, SEQ.ID.NO. 8, 9 für die Maus). Die beiden Proteine sind zu 86% homolog. Die FACS-Analyse zeigt, dass die humane 35 kDa-Form spezifisch an humane Immunzellen bindet ([Fig. 11](#)): FACS-Färbung von humanen PBMCs mit 35 kDa PIBF und α -PIBF-Antikörpern (anti-Kaninchen-FITC). Zellen sind in der Monozyten-Zellregion gezeigt (**Fig. 11A**) und im Lymphozyten-"gate" (**Fig. 11B**) gezeigt. M ist die Anzahl der Zellen im erhöhten Fluoreszenz-"gate", als Prozentsatz (%) ausgedrückt, die Zahlen beziehen sich auf: 1 = PBMC + anti-Exon 17 PIBF, 2 = PMBC + PIBF-35kDa (1 μ g) + anti-Exon 17, 3 = PBMC + PIBF-35kDa (5 μ g) + anti-Exon 17, 4 = PBMC + PIBF-35kDa (15 μ g) + anti-Exon 17. Die Bindung an humane Lymphozyten und Monozyten lässt auf einen PIBF-Rezeptor an diesen Immunzellen schließen. Eine trunkierte Version des rPIBF mit Exon 1-9 (48 kDa) mit dem N-Terminus-Teil dieser funktionellen PIBF-Form und ohne den C-terminalen Teil (Exon 17-18) ist hinsichtlich der Bindung an Immunzellen nicht funktionell (Daten nicht gezeigt).

Tabelle IV:

SEQ.ID. NO.	Name/Definition	gefundene Gewebe	Exon-Struktur der mRNA (nt)	Protein- Größe
Nr. 1	Veröffentl. humaner Gesamt- längen-PIBF		Exon 1-18	758AS 89-kDa
Nr. 2,3	Alternativer humaner Gesamt- längen-PIBF	jede Zelle (Kern)	Exon 1-18	758AS 89-kDa
Nr. 4,5	Maus-Gesamtlän- gen-PIBF	jede Zelle (Kern)	Exon 1-18	757AS 89-kDa
Nr. 6,7	Alternativ ge- spleißt, Human-35-kDa	Plazenta Lymphozyten Tumor (Magen- adenocc.)	Exon (1-5)- (17-18)	298AS 35-kDa
Nr. 8,9	Alternativ ge- spleißt, Maus- 35-kDa (Homolog der Nr.4)	Embryo Plazenta	Exon (1-5)- (17-18)	297AS 35-kDa
Nr. 10,11 12,13	Alternativ ge- spleißt, Human- 10-kDa	Tumor (endomet. Adenocc.) Schwangerschafts- Lymphozyten MCF-7 humane Mam- ma-Adenocc.-Zell- linie Leukozyten	Exon 1-(13-18) Exon 1-(15-18) Exon 14'-15-18	87AS 10-kDa
Nr. 14	Alternativ ge-	Schwangerschafts-	Exon 1-(9-10)-	118AS

	spleißt, Human-14-kDa	Lymphozyten MCF-7 Tumor-Zell- linie	(12-15)-(17-18)	14-kDa
Nr. 15,16	Alternativ ge- spleißt, Human-8-kDa	Schwangerschafts- Lymphozyten MCF-7 Tumor-Zell- linie	Exon 1-(9-10)- (12-15)-(17- 18)	70AS 8-kDa
Nr. 17,18	Alternativ ge- spleißt, Human-20-kDa	MCF-7 Tumor-Zell- linie	Exon 1-(3-7)- (9-10)-12-(17- 18)	185AS 20-kDa
Nr. 19,21, 22	Alternativ ge- spleißt, Human- 37-kDa	MCF-7 Tumor-Zell- linie	Exon (1-7)-(9- 15)-(17-18) Exon (1-7)-(9- 10)-12-(17-18)	308AS 37-kDa
Nr. 20	Alternativ ge- spleißt, Human-31-kDa	MCF-7 Tumor-Zell- linie	Exon (1-7)-(9- 15)-(17-18)	258AS 31-kDa
Nr. 23,24	Alternativ ge- spleißt, Maus- 18-kDa	Embryo Plazenta	Exon (1-2)-(17- 18)	157AS 18-kDa
Nr. 25, 26	Alternativ ge- spleißt Maus 30-kDa	Plazenta	Exon (1-4)-(16- 18)	256AS 30-kDa
Nr. 27, 28	Alternativ ge- spleißt, Maus- 27-kDa	Erwachsenen-Hoden	Exon (1-2)-(15- 18)	229AS 27-kDa
Nr. 29, 30	Alternativ ge- spleißt, Maus- 61-kDa	Embryo	Exon (1-11)- (17-18)	512AS 61-kDa
Nr. 31, 33	Alternativ ge- spleißt, Maus- 68-kDa	Embryo	Exon (1-11)-18	569AS 68-kDa
Nr. 32	Alternativ ge- spleißt, Maus- 10,5-kDa	Embryo	Exon (1-11)-18	86AS 10.5-kDa
Nr. 34, 35	Alternativ ge- spleißt, Maus- 37-kDa	Embryo	Exon 1-(8-14)- (17-18)	309AS 37-kDa
Nr. 36, 37	Alternativ ge- spleißt, Maus- 76-kDa	Erwachsenen-Hoden	Exon (1-11)- (15-18)	641AS 76-kDa

[0147] [Fig. 12A](#) bis [Fig. 12Q](#) zeigen die alternativ prozessierten PIBF-Proteine, wobei die Exons schematisch dargestellt sind:

[0148] [Fig. 12A](#) zeigt Maus-Gesamtlängen-87 kDa-PIBF (SEQ.ID.NO. 4), [Fig. 12B](#) zeigt Exons (1-5)-(17-18), gefunden bei Magentumor, human-terminaler Plazenta, männlichen und weiblichen Lymphozy-

ten, weiblichen Schwangerschafts-Lymphozyten (SEQ.ID.NO. 6), [Fig. 12C](#) zeigt Exons (1-5)-(17-18), gefunden bei Maus-Plazenta und -Embryo (SEQ.ID.NO. 8), [Fig. 12D](#) zeigt Exons 1-(13-18) (SEQ.ID. NO.11), [Fig. 12E](#) zeigt Exons 1-(15-18), gefunden bei MCF-7-Zellen und Schwangerschafts-Lymphozyten (SEQ.ID.NO.12), [Fig. 12F](#) zeigt einen Teil von Intron 14 und Exons 15-18, gefunden in der Leukozyten-cDNA-Bibliothek (SEQ.ID.NO.13), [Fig. 12G](#) zeigt Exons 1+(9-10)+(12-15)+(17-18), gefunden bei MCF-7-Zellen und Schwangerschafts-Lymphozyten (SEQ.ID.NO. 14), [Fig. 12H](#) zeigt Exons 1+(3-7)+(9-10)+12+(17-18), gefunden bei MCF-7-Zellen – humane Mamma-Tumor-Zelllinie (SEQ.ID.NO. 17), [Fig. 12I](#) zeigt Exon (1-7)+(9-15)+(17-18), gefunden bei MCF-7-Zellen – humane Mamma-Tumor-Zelllinie (SEQ.ID.NO. 19), [Fig. 12J](#) zeigt Exon (1-7)+(9-10)+12+(17-18), gefunden bei MCF-7-Zellen – humane Mamma-Tumor-Zelllinie (SEQ.ID.NO. 22), [Fig. 12K](#) zeigt Exon (1-2)-(17-18), gefunden bei Maus-Embryo und -Plazenta (SEQ.ID.NO. 23), [Fig. 12L](#) zeigt Exon (1-4)-(16-18), gefunden bei Maus-Plazenta (SEQ.ID. NO. 25), [Fig. 12M](#) zeigt Exons (1-2)-(15-18), gefunden bei Maus-Hoden (SEQ.ID.NO. 27), [Fig. 12N](#) zeigt Exon 1-11 18, gefunden bei Maus-Embryo (SEQ.ID.NO. 29), [Fig. 12O](#) zeigt Exons (1-11)-18, gefunden bei Maus-Embryo (SEQ.ID.NO. 31), [Fig. 12P](#) zeigt Exons 1-(8-14)-(17-18), gefunden bei Maus-Embryo (SEQ.ID.NO. 34) und [Fig. 12Q](#) zeigt Exons (1-1)-(15-18), gefunden bei Maus-Hoden (SEQ.ID.NO. 36).

Literaturstellen

1. Szekeres-Bartho, J., Kinsky, R., Kapovic, M., Vargan P., Chaouat, G. Immuno-endocrine networks in pregnancy. In: Gergely et. al Ed. Progress in Immunology X. Springer Verlag 1993 5.861
2. Szekeres-Bartho, J., Reznikoff-Etievant, M.F., Varga, P., Varga, Z., Chaouat, G. Lymphocytic progesterone receptors in human pregnancy. J. Reprod Immunol. 16, 239, 1989.
3. Szekeres-Bartho, J., Szekeres, Gy., Debre, P., Autran, B., Chaouat, G. Reactivity of lymphocytes to a progesterone receptor-specific monoclonal antibody. Cell. Immunol. 125, 273, 1990.
4. Szekeres-Bartho, J., F. Kilar, G. Falkay, V. Csernus, A. Torok, und A. S. Pacsa. The mechanism of the inhibitory effect of progesterone on lymphocyte cytotoxicity: I. Progesterone-treated lymphocytes release a substance inhibiting cytotoxicity and prostaglandin synthesis. Am. J. Reprod. Immunol. Microbiol. 9,15, 1985.
5. Szekeres-Bartho, J., Autran, B., Debre, P., Andreu, G., Denver, L., Chaouat, G. Immunoregulatory effects of a suppressor factor from healthy pregnant women's lymphocytes after progesterone induction. Cell. Immunol. 122, 281, 1989.
6. Szekeres-Bartho, J., Kinsky, R., Chaouat, G. A progesterone-induced immunologic blocking factor corrects high resorption rate in mice treated with antiprogesterone. Am. J. Ob. Gyn. 163, 1320, 1990.
7. Szekeres-Bartho, J., Chaouat, G. Lymphocyte-derived progesterone induced blocking factor corrects resorption in a murine abortion system. Am. J. Reprod. Immunol. 23, 26, 1990.
8. Szekeres-Bartho, J., Faust, Zs., Varga, P. Progesterone-induced blocking factor (PIBF) in normal and pathological pregnancy. Am. J. Reprod. Immunol. 34, 342, 1995.
9. Check, J., Arwitz, M., Gross, J., Szekeres-Bartho, J., Chung, H. Wu. Evidence that the expression of a progesterone-induced blocking factor by maternal T-lymphocytes is positively correlated with conception. Am. J. Reprod. Immunol 38, 6, 1997,
10. Szekeres-Bartho, J., Kinsky, R., Chaouat, G. The effect of a progesterone induced immunologic blocking factor on NK-mediated resorption. Am. J. Reprod. Immunol. 24, 105. 1990.
11. Szekeres-Bartho, J., G. Par, Gy. Dombay, Smart, Y. C. Z. Volgyi. The anti-abortive effect of PIBF in mice is manifested by modulating NK activity. Cell. Immunol. 177, 194, 1997.
12. Faust, Zs., G. Laskarin, D. Rukavina, J. Szekeres-Bartho Progesterone Induced Blocking Factor Inhibits Degranulation of NK Cells Am. J. Reprod. Immunol. 42, 71, 1999.
13. Szekeres-Bartho, J., Wegmann, T.G., A progesterone-dependent immunomodulatory protein alters the Th1/Th2 balanced. Reprod. Immunol. 31, 81-95, 1996.
14. Szekeres-Bartho, J., Wegmann, T.G. Kelemen, K., Bogнар, I., Faust, Zs., Varga, P. Interaction of progesterone- and cytokine-mediated immunomodulatory mechanisms in favor of successful gestation. Regional Immunology, 6,315, 1995.
15. Szekeres-Bartho, J., Faust, Zs., Varga, P., Szereday, L., Kelemen, K. The immunological pregnancy protective effect of progesterone is manifested via controlling cytokine production. Am. J. Reprod. Immunol. 35, 348, 1996.
16. Kelemen, K., Bogнар, I., Paal, M., und Szekeres-Bartho, J. A progesterone-induced protein increases the synthesis of asymmetric antibodies. Cell. Immunol. 167, 129, 1996.
17. Algarra I, Collado A, Garrido F. Altered MHC class I antigens in tumors. Int. J. Clin. Lab. Res. 27, 95, 1997.
18. Rees RC, Mian S. Selective MHC expression in tumors modulates adaptive and innate antitumor responses. Cancer Immunol. Immunother. 48, 374, 1999.
19. Whiteside, T. L., und Herberman, R. B. The role of natural killer cells in immune surveillance of cancer. C717r. Opin. Immunol. 7. 704. 1995.

20. Karlhofer FM, Ribaudo RK, und Yokoyama WM. MHC class I alloantigen specificity of Ly-49+ IL-2-activated natural killer cells. *Nature* 358. 5.66-70. 1992.
21. Phillips JH, Gumperz JE, Parham P. und Lanier LL. Superantigen-dependent, cell-mediated cytotoxicity inhibited by MHC class I receptors on T lymphocytes. *Science* 268. 5.403-405. 1995.
22. Cabestre FA, Lefebvre S. Moreau P. Rouas-Friess N. Dausset J. Carosella ED, Paul P. HLA-G expression: immune privilege for tumour cells? *Semin. Cancer Biol.* 9(1) 5.27-36. 1999.
23. Kagi D, Lederman B. Burki K et al. Cytotoxicity mediated by T cells and natural killer cells is greatly impaired in perforin-deficient mice. *Nature* 369. 5.31-37. 1994.
24. Smyth, M. J. et al. Perforin is a major contributor to NK cell control of tumor metastasis. *J. Immunol.* 162, 6658, 1999.
25. Kollias G. Douni E, Kassiotis G. Kontoyiannis D. On the role of tumor necrosis factor and receptors in models of multiorgan failure, rheumatoid arthritis, multiple sclerosis and inflammatory bowel disease. *Immunol Rev.* 169, 175, 1999.
26. Manilay JO, Sykes M. Natural killer cells and their role in graft rejection. *Cell* 74, 147-159, 1993.
27. Young NT. KIR genes, killer cells and clinical transplantation. *Transplantation* 68, 1626, 1999.
28. Beaman K, Angkathachai V, Gilman-Sachs A. TRIM21: the pregnancy-associated cytokine. *Am J Reprod Immunol.* 35, 338, 1996.
29. Aslakson CJ, Lee G. Boomer JS, Gilman-Sachs A, Kucuk O., Beaman KD. Expression of regeneration and tolerance factor on B cell chronic lymphocytic leukemias: a possible mechanism for escaping immune surveillance. *Am J Hematol* 61, 46, 199.
30. Bonavida B., Bradley TP, Grimm EA. Frequency determination of killer cells by a single-cell cytotoxic assay. *Methods Enzymol* 93, 270, 1983.

SEQUENZPROTOKOLL

<110> Cistem Biotechnologies GmbH

<120> PIBF

<130> R 38719

<140>

<141>

<160> 37

<170> PatentIn Ver. 2.1

<210> 1

<211> 757

<212> PRT

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: rekombinantes
Protein

<400> 1

Met Ser Arg Lys Ile Ser Lys Glu Ser Lys Lys Val Asn Ile Ser Ser

1 5 10 15

Ser Leu Glu Ser Glu Asp Ile Ser Leu Glu Thr Thr Val Pro Thr Asp

20 25 30

Asp Ile Ser Ser Ser Glu Glu Arg Glu Gly Lys Val Arg Ile Thr Arg

35 40 45

Gln Leu Ile Glu Arg Lys Glu Leu Leu His Asn Ile Gln Leu Leu Lys

50 55 60

Ile Glu Leu Ser Gln Lys Thr Met Met Ile Asp Asn Leu Lys Val Asp

65 70 75 80

DE 601 27 442 T2 2007.11.29

Tyr Leu Thr Lys Ile Glu Glu Leu Glu Glu Lys Leu Asn Asp Ala Leu
85 90 95

His Gln Lys Gln Leu Leu Thr Leu Arg Leu Asp Asn Gln Leu Ala Phe
100 105 110

Gln Gln Lys Asp Ala Ser Lys Tyr Gln Glu Leu Met Lys Gln Glu Met
115 120 125

Glu Thr Ile Leu Leu Arg Gln Lys Gln Leu Glu Glu Thr Asn Leu Gln
130 135 140

Leu Arg Glu Lys Ala Gly Asp Val Arg Arg Ser Leu Arg Asp Phe Glu
145 150 155 160

Leu Thr Glu Glu Gln Tyr Ile Lys Leu Lys Ala Phe Pro Glu Asp Gln
165 170 175

Leu Ser Ile Pro Glu Tyr Val Ser Val Arg Phe Tyr Glu Leu Val Asn
180 185 190

Pro Leu Arg Lys Glu Ile Cys Glu Leu Gln Val Lys Lys Asn Ile Leu
195 200 205

Ala Glu Glu Leu Ser Thr Asn Lys Asn Gln Leu Lys Gln Leu Thr Glu
210 215 220

Thr Tyr Glu Glu Asp Arg Lys Asn Tyr Ser Glu Val Gln Ile Arg Cys
225 230 235 240

Gln Arg Leu Ala Leu Glu Leu Ala Asp Thr Lys Gln Leu Ile Gln Gln
245 250 255

Gly Asp Tyr Arg Gln Glu Asn Tyr Asp Lys Val Lys Ser Glu Arg Asp
260 265 270

Ala Leu Glu Gln Glu Val Ile Glu Leu Arg Arg Lys His Glu Ile Leu
275 280 285

Glu Ala Ser His Met Ile Gln Thr Lys Glu Arg Ser Glu Leu Ser Lys

DE 601 27 442 T2 2007.11.29

290

295

300

Glu Val Val Thr Leu Glu Gln Thr Val Thr Leu Leu Gln Lys Asp Lys
 305 310 315 320

Glu Tyr Leu Asn Arg Gln Asn Met Glu Leu Ser Val Arg Cys Ala His
 325 330 335

Glu Glu Asp Arg Leu Glu Arg Leu Gln Ala Gln Leu Glu Glu Ser Lys
 340 345 350

Lys Ala Arg Glu Glu Met Tyr Glu Lys Tyr Val Ala Ser Arg Asp His
 355 360 365

Tyr Lys Thr Glu Tyr Glu Asn Lys Leu His Asp Glu Leu Glu Gln Ile
 370 375 380

Arg Leu Lys Thr Asn Gln Glu Ile Asp Gln Leu Arg Asn Ala Ser Arg
 385 390 395 400

Glu Met Tyr Glu Arg Glu Asn Arg Asn Leu Arg Glu Ala Arg Asp Asn
 405 410 415

Ala Val Ala Glu Lys Glu Arg Ala Val Met Ala Glu Lys Asp Ala Leu
 420 425 430

Glu Lys His Asp Gln Leu Leu Asp Arg Tyr Arg Glu Leu Gln Leu Ser
 435 440 445

Thr Glu Ser Lys Val Thr Glu Phe Leu His Gln Ser Lys Leu Lys Ser
 450 455 460

Phe Glu Ser Glu Arg Val Gln Leu Leu Gln Glu Glu Thr Ala Arg Asn
 465 470 475 480

Leu Thr Gln Cys Gln Leu Glu Cys Glu Lys Tyr Gln Lys Lys Leu Glu
 485 490 495

Val Leu Thr Lys Glu Phe Tyr Ser Leu Gln Ala Ser Ser Glu Lys Arg
 500 505 510

DE 601 27 442 T2 2007.11.29

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

DE 601 27 442 T2 2007.11.29

Lys Thr Leu Asn Val Pro Lys Glu His Glu Asp Asn Ile Phe Thr Pro
725 730 735

Lys Pro Thr Leu Phe Thr Lys Lys Glu Ala Pro Glu Trp Ser Lys Lys
740 745 750

Gln Lys Met Lys Thr
755

<210> 2

<211> 758

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 2

Met Ser Arg Lys Ile Ser Lys Glu Ser Lys Lys Val Asn Ile Ser Ser
1 5 10 15

Ser Leu Glu Ser Glu Asp Ile Ser Leu Glu Thr Thr Val Pro Thr Asp
20 25 30

Asp Ile Ser Ser Ser Glu Glu Arg Glu Gly Lys Val Arg Ile Thr Arg
35 40 45

Gln Leu Ile Glu Arg Lys Glu Leu Leu His Asn Ile Gln Leu Leu Lys
50 55 60

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

Tyr Leu Thr Lys Ile Glu Glu Leu Glu Glu Lys Leu Asn Asp Ala Leu
85 90 95

His Gln Lys Gln Leu Leu Thr Leu Arg Leu Asp Asn Gln Leu Ala Phe
100 105 110

Gln Gln Lys Asp Ala Ser Lys Tyr Gln Glu Leu Met Lys Gln Glu Met
115 120 125

DE 601 27 442 T2 2007.11.29

Glu Thr Ile Leu Leu Arg Gln Lys Gln Leu Glu Glu Thr Asn Leu Gln			
130	135	140	
Leu Arg Glu Lys Ala Gly Asp Val Arg Arg Ser Leu Arg Asp Phe Glu			
145	150	155	160
Leu Thr Glu Glu Gln Tyr Ile Lys Leu Lys Ala Phe Pro Glu Asp Gln			
	165	170	175
Leu Ser Ile Pro Glu Tyr Val Ser Val Arg Phe Tyr Glu Leu Val Asn			
	180	185	190
Pro Leu Arg Lys Glu Ile Cys Glu Leu Gln Val Lys Lys Asn Ile Leu			
	195	200	205
Ala Glu Glu Leu Ser Thr Asn Lys Asn Gln Leu Lys Gln Leu Thr Glu			
	210	215	220
Thr Tyr Glu Glu Asp Arg Lys Asn Tyr Ser Glu Val Gln Ile Arg Cys			
225	230	235	240
Gln Arg Leu Ala Leu Glu Leu Ala Asp Thr Lys Gln Leu Ile Gln Gln			
	245	250	255
Gly Asp Tyr Arg Gln Glu Asn Tyr Asp Lys Val Lys Ser Glu Arg Asp			
	260	265	270
Ala Leu Glu Gln Glu Val Ile Glu Leu Arg Arg Lys His Glu Ile Leu			
	275	280	285
Glu Ala Ser His Met Ile Gln Thr Lys Glu Arg Ser Glu Leu Ser Lys			
	290	295	300
Glu Val Val Thr Leu Glu Gln Thr Val Thr Leu Leu Gln Lys Asp Lys			
305	310	315	320
Glu Tyr Leu Asn Arg Gln Asn Met Glu Leu Ser Val Cys Cys Ala His			
	325	330	335
Glu Glu Asp Arg Leu Glu Arg Leu Gln Ala Gln Leu Glu Glu Ser Lys			

DE 601 27 442 T2 2007.11.29

340

345

350

Lys Ala Arg Glu Glu Met Tyr Glu Lys Tyr Val Ala Ser Arg Asp His
 355 360 365

Tyr Lys Thr Glu Tyr Glu Asn Lys Leu His Asp Glu Leu Glu Gln Ile
 370 375 380

Arg Leu Lys Thr Asn Gln Glu Ile Asp Gln Leu Arg Asn Ala Ser Arg
 385 390 395 400

Glu Met Tyr Glu Arg Glu Asn Arg Asn Leu Arg Glu Ala Arg Asp Asn
 405 410 415

Ala Val Ala Glu Lys Glu Arg Ala Val Met Ala Glu Lys Asp Ala Leu
 420 425 430

Glu Lys His Asp Gln Leu Leu Asp Arg Tyr Arg Glu Leu Gln Leu Ser
 435 440 445

Thr Glu Ser Lys Val Thr Glu Phe Leu His Gln Ser Lys Leu Lys Ser
 450 455 460

Phe Glu Ser Glu Arg Val Gln Leu Leu Gln Glu Glu Thr Ala Arg Asn
 465 470 475 480

Leu Thr Gln Cys Gln Leu Glu Cys Glu Lys Tyr Gln Lys Lys Leu Glu
 485 490 495

Val Leu Thr Lys Glu Phe Tyr Ser Leu Gln Ala Ser Ser Glu Lys Arg
 500 505 510

Ile Thr Glu Leu Gln Ala Gln Asn Ser Glu His Gln Ala Arg Leu Asp
 515 520 525

Ile Tyr Glu Lys Leu Glu Lys Glu Leu Asp Glu Ile Ile Met Gln Thr
 530 535 540

Ala Glu Ile Glu Asn Glu Asp Glu Ala Glu Arg Val Leu Phe Ser Tyr
 545 550 555 560

DE 601 27 442 T2 2007.11.29

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

<210> 3

<211> 2715

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: rekombinante DNA

<400> 3

```

cgtgttttgc tttccgctcc tcggaacatc cgggagagtt gacttccggc ggcttgtggg 60
agtgtctggtt ctgtcctcct tgcgggtgcg gagatggttg tcttggttac gggtcctaac 120
gggtccctgc cttgaaatcc cttgttgagg gcctgcaacc ttgtgcttcc gactggagac 180
gcctttggtc cctcgggtgc tgcaactggct gctgggtcaag gcttcagtgt ggacgaattg 240
acactttcga gaatattaaa atcaaattag agaagaaaac tgatccataa taataaaaaat 300
gtctcgaaaa atttcaaagg agtcaaaaaa agtgaacatc tctagttctc tggaatctga 360
agatattagt ttagaaacaa cagttcctac ggatgatatt tcctcatcag aagagcgaga 420
gggcaaagtc agaatcacca ggcagctaata tgaacgaaaa gaactacttc ataatttca 480
gttactaaaa attgagctat ccagaaaaac tatgatgatc gacaatttga aagtggatta 540
tcttacaaaag attgaagaat tggaggagaa acttaatgat gcacttcacc agaagcagct 600
actaacattg agattagaca accaattggc ttttcaacag aaagatgcca gcaaatatca 660
agaattaatg aaacaagaaa tggaaaccat tttgttgaga cagaaacaac tagaagagac 720
aaatcttcag ctaagagaaa aagctggaga tggtcgtcga agcctgcgtg actttgagtt 780
gacagaagag caatatatta aattaaaagc ttttcctgaa gatcagcttt ctattcctga 840
atatgtatct gttcgcttct atgagctagt gaatccatta agaaaggaaa tctgtgaact 900
acaagtgaag aagaatatcc tagcagaaga attaagtaca aacaaaaacc aactgaagca 960
gctgacagag acatatgagg aagatcgaaa aaactactct gaagttcaaa ttagatgtca 1020
acgtttggcc ttagaattag cagacacaaa acagtttaatt cagcaagggtg actaccgtca 1080
agagaactat gataaagtca agagtgaacg tgatgcactt gaacaggaag taattgagct 1140
taggagaaaa catgaaatac ttgaagcctc tcacatgatt caaacaaaag aacgaagtga 1200
attatcaaaa gaggtagtca ccttagagca aactgttact ttactgcaa aggataaaga 1260
atatcttaat cgccaaaaca tggagcttag tggtcgtcgt gctcatgaag aggatcgct 1320
tgaaagactt caagctcaac tggaagaaa caaaaaggct agagaagaga tgtatgaaaa 1380
atatgtagca tccagagacc attataaaac agaatatgaa aataaactac atgatgaact 1440
agaacaaatc agattgaaaa ccaaccaaga aattgatcaa cttcgaaatg cctctaggga 1500
aatgtatgaa cgagaaaaa gaaatctccg agaagcaagg gataatgctg tggctgaaaa 1560
ggaacgagca gtgatggctg aaaaggatgc ttagaaaaa cacgatcagc tcttagacag 1620
gtacagagaa ctacaactta gtacagaaag caaagtaaca gaatttctcc atcaaagtaa 1680
attaaaatct tttgaaagtg agcgtgttca acttctgcaa gaggaacag caagaaatct 1740
cacacagtgt caattggaat gtgaaaaata tcagaaaaaa ttggagggtt taaccaaaga 1800

```

attttatagt ctccaagcct cttctgaaaa acgcattact gaacttcaag cacagaactc 1860
 agagcatcaa gcaaggctag acatttatga gaaactggaa aaagagcttg atgaaataat 1920
 aatgcaaact gcagaaattg aaaatgaaga tgaggctgaa aggggttcttt tttcctacgg 1980
 ctatgggtgct aatgttccca caacagccaa aagacgacta aagcaaagtg ttcacttggc 2040
 aagaagagtg cttcaattag aaaaacaaaa ctcgctgatt ttaaaagatc tggaacatcg 2100
 aaaggaccaa gtaacacagc tttcacaaga gcttgacaga gccaatcgc tattaaacca 2160
 gactcaacag ccttacaggt atctcattga atcagtgcgt cagagagatt ctaagattga 2220
 ttcactgacg gaatctattg cacaacttga gaaagatgac agcaacttaa ataaagaaaa 2280
 gtcagcttta ctacagacga agaatcaaat ggcattagat ttagaacaac ttctaaatca 2340
 tcgtgaggaa ttggcagcaa tgaaacagat tctcgtaag atgcatagta aacattctga 2400
 gaacagctta cttctcacta aaacagaacc aaaacatgtg acagaaaatc agaaatcaaa 2460
 gactttgaat gtgcctaaag agcatgaaga caatatatct acacctaaac caacactctt 2520
 tactaaaaaa gaagcacctg agtgggtctaa gaaacaaaag atgaagacct agtgttttgg 2580
 atgggaagca cctgtagacc attatatact cctgaagtgc tttttctgat ggaaaacaaa 2640
 attcagctta atcgtgtact cagcattttt taaataacaa tgtttatttg aactaatatt 2700
 aaattaacaa attcg 2715

<210> 4

<211> 756

<212> PRT

<213> Maus

<400> 4

Met Ser Arg Lys Ile Ala Lys Glu Pro Lys Lys Val Asn Ile Ser Ser

1 5 10 15

Ser Leu Glu Ser Glu Asp Ile Ser Leu Glu Thr Thr Ile His Thr Asp

20 25 30

Asp Val Ser Ser Ser Glu Glu Arg Glu Gly Lys Val Lys Ile Thr Arg

35 40 45

Gln Leu Ile Glu Arg Lys Glu Ile Leu His Asn Ile Gln Leu Leu Lys

50 55 60

Ile Glu Leu Ser Gln Lys Asn Met Met Ile Asp Asn Leu Lys Met Asp

65 70 75 80

Tyr Leu Thr Lys Ile Glu Glu Leu Glu Glu Lys Leu Asn Asp Ala Leu

85 90 95

DE 601 27 442 T2 2007.11.29

His Gln Lys Gln Leu Leu Thr Leu Arg Leu Asp Asn Gln Leu Thr Ile
 100 105 110

Gln Gln Lys Asp Ala Lys Lys Tyr Gln Glu Leu Met Lys Gln Glu Met
 115 120 125

Glu Thr Ile Leu Leu Arg Gln Lys Gln Leu Glu Glu Thr Asn His Gln
 130 135 140

Leu Arg Glu Lys Ala Gly Asp Val Arg Arg Asn Leu Arg Asp Phe Glu
 145 150 155 160

Leu Thr Glu Glu Gln Tyr Val Lys Leu Lys Ser Phe Pro Glu Asp Gln
 165 170 175

Leu Ser Ile Pro Glu Tyr Val Ser Ile Arg Phe Tyr Glu Leu Val Asn
 180 185 190

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

Ser Glu Glu Leu Ser Thr Ser Lys Gly Gln Leu Lys Gln Leu Thr Glu
 210 215 220

Thr Tyr Glu Glu Asp Arg Arg Asn Asn Ala Glu Leu Leu Ile Arg Cys
 225 230 235 240

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

Gly Asp Tyr Arg Gln Glu Asn Tyr Asp Lys Val Lys Ser Glu Arg Asp
 260 265 270

Ala Leu Glu Gln Asp Val Leu Glu Leu Arg Arg Lys His Glu Val Leu
 275 280 285

Glu Ala Ser His Ile Ala Gln Ala Lys Glu Arg Asn Glu Leu Ser Lys
 290 295 300

DE 601 27 442 T2 2007.11.29

Glu Val Ser Ser Leu Gln Gln Thr Val Thr Leu Leu Gln Lys Asp Lys
305 310 315 320

Asp Tyr Leu Asn Arg Gln Asn Met Glu Leu Ser Val Arg Cys Ala His
325 330 335

Glu Glu Asp Arg Leu Glu Arg Leu Gln Val Gln Leu Glu Asp Thr Lys
340 345 350

Lys Ala Arg Glu Glu Met Tyr Glu Lys Tyr Val Thr Ser Arg Asp His
355 360 365

Tyr Lys Thr Glu Tyr Glu Asn Lys Leu His Asp Glu Leu Glu Gln Ile
370 375 380

Lys Leu Lys Thr Asn Leu Glu Ile Asp Gln Leu Arg Ser Ala Ser Arg
385 390 395 400

Glu Met Tyr Glu Arg Glu Asn Arg Asn Leu Arg Glu Ala Arg Asp Asn
405 410 415

Ala Leu Ala Glu Lys Asn Arg Ala Val Ala Ala Glu Lys Asp Ala Leu
420 425 430

Gly Lys His Glu Gln Leu Leu Asp Arg Tyr Arg Glu Leu Gln Leu Ser
435 440 445

Thr Glu Ser Lys Val Ser Glu Phe Leu His Gln Ser Lys Leu Lys Ser
450 455 460

Phe Glu Ser Glu Arg Val Gln Leu Leu Gln Glu Glu Thr Ala Arg Asn
465 470 475 480

Leu Thr Gln Cys Gln Leu Glu Cys Glu Lys Tyr Gln Lys Lys Leu Glu
485 490 495

Val Leu Thr Lys Glu Phe Tyr Ser Leu Gln Thr Ser Ser Glu Lys Arg
500 505 510

Ile Thr Glu Leu Glu Ala Gln Asn Ser Glu His Gln Ala Arg Leu Asp

DE 601 27 442 T2 2007.11.29

515

520

525

Ile Tyr Glu Lys Leu Glu Lys Glu Leu Asp Glu Ile Ile Met Gln Thr
 530 535 540

Ala Glu Ile Glu Asn Glu Asp Glu Ala Glu Arg Ile Leu Tyr Ser Tyr
 545 550 555 560

Gly Tyr Gly Ala Asn Val Pro Thr Thr Ala Lys Arg Arg Leu Lys Gln
 565 570 575

Ser Val His Leu Ala Arg Arg Val Leu Gln Leu Glu Lys Gln Asn Ser
 580 585 590

Leu Ile Leu Lys Asp Leu Asp His Gln Lys Asn Gln Val Arg Gln Leu
 595 600 605

Ser Gln Glu Leu Asp Arg Ala Asn Ser Leu Leu Asn Gln Thr Gln Gln
 610 615 620

Pro Tyr Arg Tyr Leu Ile Glu Ser Val Arg Gln Arg Asp Ala Lys Ile
 625 630 635 640

Asp Ser Leu Met Lys Ser Thr Ala Gln Leu Glu Lys Asp Val Ser Asn
 645 650 655

Leu Asn Lys Glu Lys Ser Ala Leu Leu Gln Thr Lys Asn Gln Met Ala
 660 665 670

Leu Asp Leu Glu Gln Leu Leu Ser His Arg Glu Glu Phe Ala Ala Met
 675 680 685

Lys Gln Ile Ile Ile Asn Met Cys Ser Lys His Ser Glu Asn Asn Leu
 690 695 700

Phe Leu Thr Lys Met Glu Ser Lys Ser Val Thr Glu Asn Gln Ala Lys
 705 710 715 720

Thr Leu Asn Met Pro Arg Glu His Glu Glu Asn Ile Phe Ile Pro Lys
 725 730 735

DE 601 27 442 T2 2007.11.29

Pro Thr Leu Phe Thr Lys Lys Glu Ala Gln Glu Trp Pro Lys Ser Gln

740

745

750

Lys Met Lys Thr

755

<210> 5

<211> 2719

<212> DNA

<213> Maus

<400> 5

acggccagtg aattgtaata cgactcacta tagggcgaat tgggccctct agatgcatgc 60
 tcgagcggcc gccagtgtga tggatatctg cagaattcgc ccttggttgt cttggttacg 120
 ggtcctaacg gtccggtagc cccgagatac ctgttgaggg gtggcagcct gagctgctga 180
 ctgaagacgc cattggttct tccaagagtc cgggtgaagc tgggtgttatc cttatatgcg 240
 gagttactga ccattgagag aagattgatt caaataataa aatgtctcgc aaaattgccca 300
 aggaacccaaa aaaagtaaat atctctagtt ctctggagtc tgaagatatt agtttggaaa 360
 caaccattca tacagatgat gtctcatcat cagaggagcg agaaggtaaa gtcaaaatca 420
 ccaggcagtt aatcgaaaga aaagagatac ttcataatat tcagttactg aaaatcgagc 480
 tatcccagaa aaacatgatg atcgacaact tgaaaatgga ttatcttaca aagattgagg 540
 agctagagga aaaacttaat gacgcccttc accagaagca gctgctaact ttgcgattag 600
 acaatcagtt gactattcaa cagaaagatg ccaaaaaata tcaagaacta atgaaacaag 660
 aaatggaaac cattttattg cgacagaagc aactggaaga aacaaaccat cagctgagag 720
 aaaaggctgg agatgttcgc cgaaatctgc gagactttga gctgacagaa gagcagtatg 780
 tgaagctaaa atcttttctt gaagatcaac tctctattcc tgaatatgta tctattcgct 840
 tctatgagct cgtgaaccca ttaagaaagg aagtctgtga gctacaggtg aagaagagtg 900
 aactctctga agaactgagt acaagtaaag gccaaactgaa gcagctgacg gagacatatg 960
 aagaagatcg aagaaacaac gctgaacttc taattcgatg tcaacgtttg acctagaat 1020
 tagcagacac aaaacagtta gttcagcaag gtgattaccg tcaagagaac tatgacaaag 1080
 tgaagagtga acgcgatgct ctggaacagg acgtactcga gcttagaaga aaacacgaag 1140
 tacttgaagc ctctcacata gctcaagcta aggaaaggaa tgaattatca aaggaggtca 1200
 gcagcctgca gcagacagtc accctgctgc agaaggataa agactacctc aatcgccaaa 1260
 acatggaact cagtgtacgc tgtgcccatg aggaggatcg gctggaaagg ctgcaagttc 1320
 aactggaaga caccaaaaag gctagagaag agatgtatga gaaatatgtc acgtccagag 1380
 accattataa aacagaatat gaaaataaac tacatgatga actggaacaa atcaaattga 1440
 aaactaatct agaaattgat cagcttcgaa gtgcctctag ggaaatgtat gaacgagaaa 1500
 acagaaatct ccgtgaagca agggataatg cactcgctga aaagaaccga gcagtggcag 1560

cggaaaagga cgctctggga aagcatgagc agctcctaga caggtacaga gaactccagc 1620
 tcagtacaga gagcaaggta tctgagtttc tccatcagag caagttgaag tcctttgaaa 1680
 gtgagcgtgt tcaactcctg caagaggaaa ctgcaagaaa tctcacgcag tgccagttgg 1740
 agtgtgaaaa atatcagaag aaattggagg ttttaactaa agaattttat agtctccaaa 1800
 cttcttctga aaaacgcatt accgaactcg aggcacagaa ctgagagcat caggcaaggt 1860
 tagacattta cgagaagttg gaaaaggagc ttgatgagat aataatgcaa acagcagaaa 1920
 ttgaaaatga agatgaggct gaaagaattc tttattccta tggttatggg gctaattgtc 1980
 ccacaacagc taaaagacga ctaaagcaaa gtgtccactt ggcaagaaga gttcttcagt 2040
 tagaaaaaca aaattcatta attttaaaaag atctggacca tcaaaaagaac caagtaagac 2100
 agctttcaca agagcttgac agagccaatt cactgttgaa tcagactcag cagccctaca 2160
 gatacctcat agagtctgtg cgacagagag atgccaagat tgactcactg atgaagtcta 2220
 cagctcaact tgagaaagat gtcagcaact taaataaaga gaagtcagcc ctgctgcaga 2280
 cgaagaacca gatggcactg gatctggagc agctcctcag tcaccgcgag gaatttgcag 2340
 ctatgaagca gatcatcatt aatatgtgta gtaaaccattc tgagaacaac ttatttctta 2400
 cgaaaatgga atcaaaaagt gtgacagaaa atcaagcaaa gactttgaat atgccaagag 2460
 aacatgaaga gaatatatth ataccaagc caacgctctt tactaaaaag gaagcacaag 2520
 agtggcccaa gagtcagaag atgaagacct agtgtttggg gttgaagaaa gctggagcct 2580
 aaccagcca ggccctcggc tctccattgg aacaggcctg tggtatcatg tactcctgaa 2640
 gtgcaatgtc tggtggaagg gcgaattcca gcacactggc ggccgttact agtggatccg 2700
 agctcgggtac caagctggc 2719

<210> 6

<211> 298

<212> PRT

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: Fragment

<400> 6

Met Ser Arg Lys Ile Ser Lys Glu Ser Lys Lys Val Asn Ile Ser Ser
 1 5 10 15

Ser Leu Glu Ser Glu Asp Ile Ser Leu Glu Thr Thr Val Pro Thr Asp
 20 25 30

Asp Ile Ser Ser Ser Glu Glu Arg Glu Gly Lys Val Arg Ile Thr Arg
 35 40 45

Gln Leu Ile Glu Arg Lys Glu Leu Leu His Asn Ile Gln Leu Leu Lys

DE 601 27 442 T2 2007.11.29

50

55

60

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

Tyr Leu Thr Lys Ile Glu Glu Leu Glu Glu Lys Leu Asn Asp Ala Leu
 85 90 95

His Gln Lys Gln Leu Leu Thr Leu Arg Leu Asp Asn Gln Leu Ala Phe
 100 105 110

Gln Gln Lys Asp Ala Ser Lys Tyr Gln Glu Leu Met Lys Gln Glu Met
 115 120 125

Glu Thr Ile Leu Leu Arg Gln Lys Gln Leu Glu Glu Thr Asn Leu Gln
 130 135 140

Leu Arg Glu Lys Ala Gly Asp Val Arg Arg Asn Leu Arg Asp Phe Glu
 145 150 155 160

Leu Thr Glu Glu Gln Tyr Ile Lys Leu Lys Ala Phe Pro Glu Asp Gln
 165 170 175

Leu Ser Ile Pro Glu Tyr Val Ser Val Arg Phe Tyr Glu Leu Val Asn
 180 185 190

Pro Leu Arg Lys Glu Ile Cys Glu Leu Gln Val Lys Lys Asn Ile Leu
 195 200 205

Ala Glu Glu Leu Ser Thr Asn Lys Asn Gln Leu Lys Gln Leu Thr Glu
 210 215 220

Glu Leu Ala Ala Met Lys Gln Ile Leu Val Lys Met His Ser Lys His
 225 230 235 240

Ser Glu Asn Ser Leu Leu Leu Thr Lys Thr Glu Pro Lys His Val Thr
 245 250 255

Glu Asn Gln Lys Ser Lys Thr Leu Asn Val Pro Arg Glu His Glu Asp
 260 265 270

Asn Ile Phe Thr Pro Lys Pro Thr Leu Phe Thr Lys Lys Glu Ala Pro
 275 280 285

Glu Trp Ser Lys Lys Gln Lys Met Lys Thr
 290 295

<210> 7

<211> 957

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: Fragment

<400> 7

```
atgtctcgaa aaatttcaaa ggagtcaaaa aaagtgaaca tctctagttc tctggaatct 60
gaagatatta gtttagaaac aacagttcct acggatgata tttcctcatc agaagagcga 120
gagggcaaag tcagaatcac caggcagcta attgaacgaa aagaactact tcataatatt 180
cagttactaa aaattgagct atcccagaaa actatgatga tcgacaattt gaaagtggat 240
tatcttacia agattgaaga attggaggag aaacttaatg atgcacttca ccagaagcag 300
ctactaacat tgagattaga caaccaattg gcttttcaac agaaagatgc cagcaaatat 360
caagaattaa tgaacaaga aatggaaacc attttgttga gacagaaaca actagaagag 420
acaaatcttc agctaagaga aaaagctgga gatgttcgtc gaaacctgcg tgactttgag 480
ttgacagaag agcaatatat taaattaaaa gcttttctctg aagatcagct ttctattcct 540
gaatatgtat ctgttcgctt ctatgagcta gtgaatccat taagaaagga aatctgtgaa 600
ctacaagtga aaaagaatat cctagcagaa gaattaagta caaacaaaaa ccaactgaag 660
cagctgacag aggaattggc agcaatgaaa cagattctcg ttaagatgca tagtaaacat 720
tctgagaaca gcttactttc cactaaaaca gaacaaaaac atgtgacaga aaatcagaaa 780
tcaaagactt tgaatgtgcc taaagagcat gaagacaata tatttacacc taaaccaaca 840
ctctttacta aaaaagaagc acctgagtgg tctaagaaac aaaagatgaa gacctagtgt 900
tttgatggg aagcacctgt agaccattat atactcctga agttcttttt ctgatgg 957
```

<210> 8

<211> 297

<212> PRT

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: Fragment

<400> 8

Met Ser Arg Lys Ile Ala Lys Glu Pro Lys Lys Val Asn Ile Ser Ser
 1 5 10 15

Ser Leu Glu Ser Glu Asp Ile Ser Leu Glu Thr Thr Ile His Thr Asp
 20 25 30

Asp Val Ser Ser Ser Glu Glu Arg Glu Gly Lys Val Lys Ile Thr Arg
 35 40 45

Gln Leu Ile Glu Arg Lys Glu Ile Leu His Asn Ile Gln Leu Leu Lys
 50 55 60

Ile Glu Leu Ser Gln Lys Asn Met Met Ile Asp Asn Leu Lys Met Asp
 65 70 75 80

Tyr Leu Thr Lys Ile Glu Glu Leu Glu Glu Lys Leu Asn Asp Ala Leu
 85 90 95

His Gln Lys Gln Leu Leu Thr Leu Arg Leu Asp Asn Gln Leu Thr Ile
 100 105 110

Gln Gln Lys Asp Ala Lys Lys Tyr Gln Glu Leu Met Lys Gln Glu Met
 115 120 125

Glu Thr Ile Leu Leu Arg Gln Lys Gln Leu Glu Glu Thr Asn His Gln
 130 135 140

Leu Arg Glu Lys Ala Gly Asp Val Arg Arg Asn Leu Arg Asp Phe Glu
 145 150 155 160

Leu Thr Glu Glu Gln Tyr Val Lys Leu Lys Ser Phe Pro Glu Asp Gln
 165 170 175

Leu Ser Ile Pro Glu Tyr Val Ser Ile Arg Phe Tyr Glu Leu Val Asn
 180 185 190

Pro Leu Arg Lys Glu Val Cys Glu Leu Gln Val Lys Lys Ser Glu Leu

195

200

205

Ser Glu Glu Leu Ser Thr Ser Lys Gly Gln Leu Lys Gln Leu Thr Glu

210

215

220

Glu Phe Ala Ala Met Lys Gln Ile Ile Ile Asn Met Cys Ser Lys His

225

230

235

240

Ser Glu Asn Asn Leu Phe Leu Thr Lys Met Glu Ser Lys Ser Val Thr

245

250

255

Glu Asn Gln Ala Lys Thr Leu Asn Met Pro Arg Glu His Glu Glu Asn

260

265

270

Ile Phe Ile Pro Lys Pro Thr Leu Phe Thr Lys Lys Glu Ala Gln Glu

275

280

285

Trp Pro Lys Ser Gln Lys Met Lys Thr

290

295

<210> 9

<211> 1173

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: Fragment

<400> 9

gacggccgtg aattgtaata cgactcacta tagggcgaat tgggccctct agatgcatgc 60
 tcgagcggcc gccagtgtga tggatatctg cagaattcgc cttatgtct cgcaaaattg 120
 ccaaggaacc aaaaaaagta aatatctcta gttctctgga gtctgaagat attagtttgg 180
 aaacaacccat tcatacagat gatgtctcat catcagagga gcgagaaggt aaagtcaaaa 240
 tcaccaggca gttaatcgaa agaaaagaga tacttcataa tattcagtta ctgaaaatcg 300
 agctatccca gaaaaacatg atgatcgaca acttgaaaat ggattatctt acaaagattg 360
 aggagctaga ggaaaaactt aatgacgccc ttcaccagaa gcagctgcta actttgcatg 420
 tagacaatca gttgactatt caacagaaaag atgccaaaaa atatcaagaa ctaatgaaac 480
 aagaaatgga aaccatttta ttgcgacaga agcaactgga agaaacaaac catcagctga 540
 gagaaaaggc tggagatgtt cgccgaaatc tgcgagactt tgagctgaca gaagagcagt 600

atgtgaagct aaaatctttt cctgaagatc aactctctat tcctgaatat gtatctattc 660
 gcttctatga gctcgtgaac ccattaagaa aggaagtctg tgagctacag gtgaagaaga 720
 gtgaactctc tgaagaactg agtacaagta aaggccaact gaagcagctg acggaggaat 780
 ttgcagctat gaagcagatc atcattaata tgtgtagtaa acattctgag aacaacttat 840
 ttcttacgaa aatggaatca aaaagtgtga cagaaaatca agcaaagact ttgaatatgc 900
 caagagaaca tgaagagaat atattttatac ccaagccaac gctctttact aaaaaggaag 960
 cacaagagtg gccaagagt cagaagatga agacctagtg tttggtgttg aagaaagctg 1020
 gagcctaacc cagccaggcc ctcggtcttc cattggaaca ggctgtgtt atcatgtact 1080
 cctgaagtgc aatgtctgtt ggaagggcga attccagcac actggcggcc gttactagtg 1140
 gatccgagct cggtagcaag cttggcgtaa tca 1173

<210> 10

<211> 87

<212> PRT

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: Fragment

<400> 10

Met	Ala	Leu	Asp	Leu	Glu	Gln	Leu	Leu	Asn	His	Arg	Glu	Glu	Leu	Ala
1				5					10					15	

Ala	Met	Lys	Gln	Ile	Leu	Val	Lys	Met	His	Ser	Lys	His	Ser	Glu	Asn
				20					25					30	

Ser	Leu	Leu	Leu	Thr	Lys	Thr	Glu	Pro	Lys	His	Val	Thr	Glu	Asn	Gln
				35				40						45	

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

Thr	Pro	Lys	Pro	Thr	Leu	Phe	Thr	Lys	Lys	Glu	Ala	Pro	Glu	Trp	Ser
				65				70						75	80

Lys	Lys	Gln	Lys	Met	Lys	Thr
				85		

<210> 11

<211> 983

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: Fragment

<400> 11

```

acgccagctt ggtaccgagc tcggatccac tagtaacggc cgccagtgtg ctggaattcg 60
cccttctgcc ttgaaatccc ttgttgaggg cctgcaacct tgtgcttccg actggagacg 120
ccttttgtcc ctcggtgtct gcactggctg ctggtcaagg cttcagtgtg gacgaattga 180
cactttcgag ttgaaaatga agatgaggct gaaaggggtc ttttttccta cggctatggg 240
gctaattgtc ccacaacagc caaaagacga ctaaagcaaa gtgttcactt ggcaagaaga 300
gtgcttcaat tagaaaaaca aaactcgctg attttaaaag atctggaaca tcgaaaggac 360
caagtaacac agctttcaca agagcttgac agagccaatt cgctattaaa ccagactcaa 420
cagccttaca ggtatctcat tgaatcagtg cgtcagagag attctaagat tgattcactg 480
acggaatcta ttgcacaact tgagaaagat gtcagcaact taaataaaga aaagtcagct 540
ttactacaga cgaagaatca aatggcatta gatttagaac aacttctaaa tcatcgtgag 600
gaattggcag caatgaaaca gattctcggt aagatgcata gtaaaccattc tgagaacagc 660
ttactttctc ctaaaacaga accaaaacat gtgacagaaa atcagaaatc aaagactttg 720
aatgtgccta aagagcatga agacaatata ttacaccta aaccaacact ctttactaaa 780
aaagaagcac ctgagtgggc taagaaacaa aagatgaaga cctagtgttt tggatgggaa 840
gcacctgtag accattatat actcctgaag ttctttttct gatggaaggc cgaattctgc 900
agatatccat cacactggcg gccgctcgag catgcatcta gagggcccaa ttcgccctat 960
agtgagtcgt attacaattc act                                     983

```

<210> 12

<211> 689

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: Fragment

<400> 12

```

ggttgtcttg gttacgggtc ctaacgggtc cctgccttga aatcccttgt tgagggcctg 60
caaccttgtg cttccgactg gagacgcctt tggccctcgt gtgtctgcac tggctgctgg 120
tcaaggcttc agtgtggagt aattgacact ttcgagcttg acagagccaa ttcgctatta 180
aaccagactc aacagcctta caggtatctc attgaatcag tgcgtcagag agattctaag 240
attgattcac tgacggaatc tattgcacaa cttgagaaag atgtcagcaa cttaaataaa 300

```

```

gaaaagtcag ctttactaca gacgaagaat caaatggcat tagatttaga acaacttcta 360
aatcatcgtg aggaattggc agcaatgaaa cagattctcg ttaagatgca tagtaaacad 420
tctgagaaca gcttacttct cactaaaaca gaacccaaac atgtgacaga aaatcagaaa 480
tcaaagactt tgaatgtgcc taaagagcat gaagacaata tatttacacc taaaccaaca 540
ctctttacta aaaaagaagc acctgagtgg tctaagaaac aaaagatgaa gacctagtgt 600
tttgatggg aagcacctgt agaccattat atactcctga agttcttttt ctgatggaaa 660
acaaaattca gcttaatcgt gtactcagc                                     689

```

<210> 13

<211> 1257

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: Fragment

<400> 13

```

ccatcagaaa aagaacttca ggacgcgtgg gtttatcgcc cagactggag tgcagtggca 60
tgatcacagt tcattgcaac ctctgcctcc cagggtaag gactcctccc tcctcagcct 120
cccaagtagc tggaactgta gctacgcact actgtgcctg gctaattttt gtattttttt 180
ggtagagaca gggtttcacc atgttgccca ggctagtcta gaacttctgg gctcaagcga 240
tccacctgcc tagggcctct gaaagtactg ggattggaga tgtgccactg caccagacca 300
agaagttaat attttaaaag ttttaaaaac tatttctctt ataacaaagg gttttttcaa 360
gtcatacatt aaataacatt aatatatgtt gtttattatt tgttttctta aggatctgtt 420
tatattcttt agagtgtctt ttcatactat aacattagga ggatctttat cctcaaattt 480
cgaaagacca gaaatacttc attttattgc agttcctgac acatagttaa tgcttggggg 540
tgacacagtg gtgtgttggg aaatgttaac agccagcttt ccaagaggga tatgaggggg 600
agcttgattt gtaacattgg cttgtatctc ttttataaat actccccacc atggctgact 660
tcaaactacc aacctaaggt tactgaagat ggagtaaaga ttgtcagcag cataccagta 720
cttaatgttt gcaccataca gatacaacag acatagcttg acagagccaa ttcgctatta 780
aaccagactc aacagcctta caggtatctc attgaatcag tgcgtcagag agattctaag 840
attgattcac tgacggaatc tattgcacaa cttgagaaag atgtcagcaa cttaataaaa 900
gaaaagtcag ctttactaca gacgaagaat caaatggcat tagatttaga acaacttcta 960
aatcatcgtg aggaattggc agcaatgaaa cagattctcg ttaagatgca tagtaaacad 1020
tctgagaaca gcttacttct cactaaaaca gaacccaaac atgtgacaga aaatcagaaa 1080
tcaaagactt tgaatgtgcc taaagagcat gaagacaata tatttacacc taaaccaaca 1140
ctctttacta aaaaagaagc acctgagtgg tctaagaaac aaaagatgaa gacctagtgt 1200
tttgatggg aagcacctgt agaccattat atactcctga agttcttttt ctgatgg 1257

```

<210> 14

<211> 118

<212> PRT

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: Fragment

<400> 14

Met Gln Thr Ala Glu Ile Glu Asn Glu Asp Glu Ala Glu Arg Val Leu

1 5 10 15

Phe Ser Tyr Gly Tyr Gly Ala Asn Val Pro Thr Thr Ala Lys Arg Arg

20 25 30

Leu Lys Gln Ser Val His Leu Ala Arg Arg Val Leu Gln Leu Glu Lys

35 40 45

Gln Asn Ser Leu Ile Leu Lys Asp Leu Glu His Arg Lys Asp Gln Val

50 55 60

Thr Gln Leu Ser Gln Glu Leu Asp Arg Ala Asn Ser Leu Leu Asn Gln

65 70 75 80

Thr Gln Gln Pro Tyr Arg Tyr Leu Ile Glu Ser Val Arg Gln Arg Asp

85 90 95

Ser Lys Ile Asp Ser Leu Thr Glu Ser Ile Ala Gln Leu Glu Lys Asp

100 105 110

Val Arg Asn Trp Gln Gln

115

<210> 15

<211> 70

<212> PRT

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: Fragment

<400> 15

Met Lys Gln Ile Leu Val Lys Met His Ser Lys His Ser Glu Asn Ser

1

5

10

15

Leu Leu Leu Thr Lys Thr Glu Pro Lys His Val Thr Glu Asn Gln Lys

20

25

30

Ser Lys Thr Leu Asn Val Pro Lys Glu His Glu Asp Asn Ile Phe Thr

35

40

45

Pro Lys Pro Thr Leu Phe Thr Lys Lys Glu Ala Pro Glu Trp Ser Lys

50

55

60

Lys Gln Glu Met Lys Thr

65

70

<210> 16

<211> 1173

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: Fragment

<400> 16

ggttgctcttg gttacgggtc ctaacgggtc cctgccttga aatcccttgt tgagggcctg 60
 caaccttggtg cttccgactg gagacgcctt tggtcctctg gtgtctgcac tggctgctgg 120
 tcaaggcttc agtgtggagt aattgacact ttcgagagac cattataaaa cagaatatga 180
 aaataaacta catgatgaac tagaacaaat cagattgaaa accaaccaag aaattgatca 240
 acttcgaaat gcctctaggg aaatgtatga acgagaaaac agaaatctcc gagaagcaag 300
 ggataatgct gtggctgaaa aggaacgagc agtgatggct gaaaaggatg ctttagaaaa 360
 acacgatcag ctcttagaca ggttttaacc aaagaatttt atagtctcca agcctcttct 420
 gaaaaacgca ttactgaact tcaagcacag aactcagagc atcaagcaag gctagacatt 480
 tatgagaaaac tggaaaaaga gcttgatgaa ataataatgc aaactgcaga aattgaaaaa 540
 gaagatgagg ctgaaagggg tcttttttcc tacggctatg gtgctaattg tcccacaaca 600
 gccaaaagac gactaaagca aagtgttcac ttggcaagaa gagtgcttca attagaaaaa 660
 caaaactcgc tgatttttaa agatctggaa catcgaaagg accaagtaac acagctttca 720
 caagagcttg acagagccaa ttcgctatta aaccagactc aacagcctta caggtatctc 780

attgaatcag tgcgtcagag agattctaag attgattcac tgacggaatc tattgcacaa 840
 cttgagaaaag atgtcaggaa ttggcagcaa tgaaacagat tctcgtaaag atgcatagta 900
 aacattctga gaacagctta cttctcacta aaacagaacc aaaacatgtg acagaaaatc 960
 agaaatcaaa gactttgaat gtgcctaaag agcatgaaga caatatatatt acacctaaac 1020
 caacactctt tactaaaaaa gaagcacctg agtgggtctaa gaaacaagag atgaagacct 1080
 agtggttttg atgggaagca cctgtagacc attatatact cctgaagttc tttttctgat 1140
 ggaaaacaaa attcagctta atcgtgtact cac 1173

<210> 17

<211> 185

<212> PRT

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: Fragment

<400> 17

Met Lys Gln Glu Met Glu Thr Ile Leu Leu Arg Gln Lys Gln Leu Glu

1 5 10 15

Glu Thr Asn Leu Gln Leu Arg Glu Lys Ala Gly Asp Val Arg Arg Asn

20 25 30

Leu Arg Asp Phe Glu Leu Thr Glu Glu Gln Tyr Ile Lys Leu Lys Ala

35 40 45

Phe Pro Glu Asp Gln Leu Ser Ile Pro Glu Tyr Val Ser Val Arg Phe

50 55 60

Tyr Glu Leu Val Asn Pro Leu Arg Lys Glu Ile Cys Glu Leu Gln Val

65 70 75 80

Lys Lys Asn Ile Leu Ala Glu Glu Leu Ser Thr Asn Lys Asn Gln Leu

85 90 95

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

100 105 110

Val Gln Ile Arg Cys Gln Arg Leu Ala Leu Glu Leu Ala Asp Thr Lys

115 120 125

DE 601 27 442 T2 2007.11.29

Gln Leu Ile Gln Gln Gly Asp Tyr Arg Gln Glu Asn Tyr Asp Lys Val
130 135 140

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

Lys His Glu Ile Leu Glu Ala Ser His Met Ile Gln Thr Lys Glu Arg
165 170 175

Ser Glu Leu Ser Lys Glu Arg Pro Leu
180 185

<210> 18

<211> 1596

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: Fragment

<400> 18

```
ccgagctcgg atccactagt aacggccgcc agtgtgctgg aattcgccct tctgccttga 60
aatcccttgt tgagggcctg caaccttgtg cttccgactg gagacgcctt tgggccctcg 120
gtgtctgcac tggctgctgg tcaaggcttc agtgtggagt aattgacact ttcgagattg 180
aagaattgga ggagaaactt aatgatgcac ttcaccagaa gcagctacta acattgagat 240
tagacaacca attggctttt caacagaaag atgccagcaa atatcaagaa ttaatgaaac 300
aagaaatgga aaccattttg ttgagacaga aacaactaga agagacaaat cttcagctaa 360
gagaaaaagc tggagatggt cgtcgaaacc tgcgtgactt tgagttgaca gaagagcaat 420
atattaaatt aaaagctttt cctgaagatc agctttctat tcctgaatat gtatctgttc 480
gcttctatga gctagtgaat ccattaagaa aggaaatctg tgaactacaa gtgaaaaaga 540
atatictagc agaagaatta agtacaaaca aaaaccaact gaagcagctg acagagacat 600
atgaggaaga tcgaaaaaac tactctgaag ttcaaattag atgtcaacgt ttggccttag 660
aattagcaga cacaaaacag ttaattcagc aaggtgacta ccgtcaagag aactatgata 720
aagtcaagag tgaacgtgat gcacttgaac aggaagtaat tgagcttagg agaaaacatg 780
aaatacttga agcctctcac atgattcaaa caaaagaacg aagtgaatta tcaaaagaga 840
gaccattata aaacagaata tgaaaataaa ctacatgatg aactagaaca aatcagattg 900
aaaaccaacc aagaaattga tcaacttcga aatgcctcta gggaaatgta tgaacgagaa 960
aacagaaatc tccgagaagc aagggataat gctgtggctg aaaaggaacg agcagtgatg 1020
```

gctgaaaagg atgcttttaga aaaacacgat cagctcttag acaggtttta accaaagaat 1080
 tttatagtct ccaagcctct tctgaaaaac gcattactga acttcaagca cagaactcag 1140
 agcatcaagc aaggctagac atttatgaga aactggaaaa agagcttgat gaaataataa 1200
 tgcaaaactgc agaaagaatt ggcagcaatg aaacagattc tcgttaagat gcatagtaaa 1260
 cattctgaga acagcttact tctcactaaa acagaaccaa aacatgtgac agaaaatcag 1320
 aaatcaaaga ctttgaatgt gcctaaagag catgaagaca atatatattac acctaaacca 1380
 acactcttta ctaaaaaaga agcacctgag tggctctaaga aacaaaagat gaagacctag 1440
 tgtttttgat gggaagcacc tgtagaccat tatatactcc tgaagttctt tttctgatgg 1500
 aagggcgaat totgcagata tccatcacac tggcgccgc tcgagcatgc atctagaggg 1560
 cccaattcgc cctatagtga gtcgtattac aattca 1596

<210> 19

<211> 308

<212> PRT

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: Fragment

<400> 19

Met Ser Arg Lys Ile Ser Lys Glu Ser Lys Lys Val Asn Ile Ser Ser
 1 5 10 15

Ser Leu Glu Ser Glu Asp Ile Ser Leu Glu Thr Thr Val Pro Thr Asp
 20 25 30

Asp Ile Ser Ser Ser Glu Glu Arg Glu Gly Lys Val Arg Ile Thr Arg
 35 40 45

Gln Leu Ile Glu Arg Lys Glu Leu Leu His Asn Ile Gln Leu Leu Lys
 50 55 60

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

Tyr Leu Thr Lys Ile Glu Glu Leu Glu Glu Lys Leu Asn Asp Ala Leu
 85 90 95

His Gln Lys Gln Leu Leu Thr Leu Arg Leu Asp Asn Gln Leu Ala Phe
 100 105 110

DE 601 27 442 T2 2007.11.29

Gln Gln Lys Asp Ala Ser Lys Tyr Gln Glu Leu Met Lys Gln Glu Met			
115	120	125	
Glu Thr Ile Leu Leu Arg Gln Lys Gln Leu Glu Glu Thr Asn Leu Gln			
130	135	140	
Leu Arg Glu Lys Ala Gly Asp Val Arg Arg Asn Leu Arg Asp Phe Glu			
145	150	155	160
Leu Thr Glu Glu Gln Tyr Ile Lys Leu Lys Ala Phe Pro Glu Asp Gln			
165	170	175	
Leu Ser Ile Pro Glu Tyr Val Ser Val Arg Phe Tyr Glu Leu Val Asn			
180	185	190	
Pro Leu Arg Lys Glu Ile Cys Glu Leu Gln Val Lys Lys Asn Ile Leu			
195	200	205	
Ala Glu Glu Leu Ser Thr Asn Lys Asn Gln Leu Lys Gln Leu Thr Glu			
210	215	220	
Thr Tyr Glu Glu Asp Arg Lys Asn Tyr Ser Glu Val Gln Ile Arg Cys			
225	230	235	240
Gln Arg Leu Ala Leu Glu Leu Ala Asp Thr Lys Gln Leu Ile Gln Gln			
245	250	255	
Gly Asp Tyr Arg Gln Glu Asn Tyr Asp Lys Val Lys Ser Glu Arg Asp			
260	265	270	
Ala Leu Glu Gln Glu Val Ile Glu Leu Arg Arg Lys His Glu Ile Leu			
275	280	285	
Glu Ala Ser His Met Ile Gln Thr Lys Glu Arg Ser Glu Leu Ser Lys			
290	295	300	
Glu Arg Pro Leu			
305			

<210> 20

<211> 258

<212> PRT

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: Fragment

<400> 20

Met Tyr Glu Arg Glu Asn Arg Asn Leu Arg Glu Ala Arg Asp Asn Ala

1

5

10

15

Val Ala Glu Lys Glu Arg Ala Val Met Ala Glu Lys Asp Ala Leu Glu

20

25

30

Lys His Asp Gln Leu Leu Asp Arg Tyr Arg Glu Leu Gln Leu Ser Thr

35

40

45

Glu Ser Lys Val Thr Glu Phe Leu His Gln Ser Lys Leu Lys Ser Phe

50

55

60

Glu Ser Glu Arg Val Gln Leu Leu Gln Glu Glu Thr Ala Arg Asn Leu

65

70

75

80

Thr Gln Cys Gln Leu Glu Cys Glu Lys Tyr Gln Lys Lys Leu Glu Val

85

90

95

Leu Thr Lys Glu Phe Tyr Ser Leu Gln Ala Ser Ser Glu Lys Arg Ile

100

105

110

Thr Glu Leu Gln Ala Gln Asn Ser Glu His Gln Ala Arg Leu Asp Ile

115

120

125

Tyr Glu Lys Leu Glu Lys Glu Leu Asp Glu Ile Ile Met Gln Thr Ala

130

135

140

Glu Ile Glu Asn Glu Asp Glu Ala Glu Arg Val Leu Phe Ser Tyr Gly

145

150

155

160

DE 601 27 442 T2 2007.11.29

Tyr Gly Ala Asn Val Pro Thr Thr Ala Lys Arg Arg Leu Lys Gln Ser
165 170 175

Val His Leu Ala Arg Arg Val Leu Gln Leu Glu Lys Gln Asn Ser Leu
180 185 190

Ile Leu Lys Asp Leu Glu His Arg Lys Asp Gln Val Thr Gln Leu Ser
195 200 205

Gln Glu Leu Asp Arg Ala Asn Ser Leu Leu Asn Gln Thr Gln Gln Pro
210 215 220

Tyr Arg Tyr Leu Ile Glu Ser Val Arg Gln Arg Asp Ser Lys Ile Asp
225 230 235 240

Ser Leu Thr Glu Ser Ile Ala Gln Leu Glu Lys Asp Val Arg Asn Trp
245 250 255

Gln Gln

<210> 21

<211> 2403

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: Fragment

<400> 21

gcttggtacc gagctcggat ccactagtaa cggccgccag tgtgctggaa ttcgcccttc 60
gccttgaaat cccttggtga gggcctgcaa ccttggtgctt ccgactggag acgcctttgg 120
tcctcgggtg tctgcactgg ctgctgggtca aggccttcagt gtggagtaat tgacactttc 180
gagaatatta aaatcaaatt agagaagaaa actgatccat aataataaaa atgtctcgaa 240
aaatttcaaa ggagtcacaaa aaagtgaaca tctctagttc tctggaatct gaagatatta 300
gtttagaaac aacagttcct acggatgata ttctctcatc agaagagcga gagggcaaag 360
tcagaatcac caggcagcta attgaacgaa aagaactact tcataatatt cagttactaa 420
aaattgagct atcccagaaa actatgatga tcgacaattt gaaagtggat tatcttacia 480


```

agattgaaga attggaggag aaacttaatg atgcacttca ccagaagcag ctactaacat 540
tgagattaga caaccaattg gcttttcaac agaaagatgc cagcaaatat caagaattaa 600
tgaaacaaga aatggaaacc attttggtga gacagaaaca actagaagag acaaactctc 660
agctaagaga aaaagctgga gatgttcgtc gaaacctgcg tgactttgag ttgacagaag 720
agcaatatat taaattaaaa gcttttcctg aagatcagct ttctattcct gaatatgtat 780
ctgttcgctt ctatgagcta gtgaatccat taagaaagga aatctgtgaa ctacaagtga 840
aaaagaatat cctagcagaa gaattaagta caaacaaaaa ccaactgaag cagctgacag 900
agacatatga ggaagatcga aaaaactact ctgaagttca aattagatgt caacgtttgg 960
ccttagaatt agcagacaca aaacagttaa ttcagcaagg tgactaccgt caagagaact 1020
atgataaagt caagagtga cgtgatgcac ttgaacagga agtaattgag cttaggagaa 1080
aacatgaaat acttgaagcc tctcacatga ttcaaacaaa agaacgaagt gaattatcaa 1140
aagagagacc attataaaac agaatatgaa aataaactac atgatgaact agaacaaatc 1200
agattgaaaa ccaaccaaga aattgatcaa cttcgaaatg cctctaggga aatgtatgaa 1260
cgagaaaaa gaaatctccg agaagcaagg gataatgctg tggctgaaaa ggaacgagca 1320
gtgatggctg aaaaggatgc tttagaaaaa cacgatcagc tcttagacag gtacagagaa 1380
ctacaactta gtacagaaag caaagtaaca gaatttctcc atcaaagtaa attaaaatct 1440
tttgaaagtg agcgtgttca acttctgcaa gaggaaacag caagaaatct cacacagtgt 1500
caattggaat gtgaaaaata tcagaaaaaa ttggagggtt taaccaaga attttatagt 1560
ctccaagcct cttctgaaaa acgcattact gaacttcaag cacagaactc agagcatcaa 1620
gcaaggctag acatttatga gaaactggaa aaagagcttg atgaaataat aatgcaaact 1680
gcagaaattg aaaatgaaga tgaggctgaa agggttcttt tttcctacgg ctatggtgct 1740
aatgttccca caacagccaa aagacgacta aagcaaagtg ttcacttggc aagaagagt 1800
cttcaattag aaaaacaaaa ctcgctgatt ttaaaagatc tggaacatcg aaaggaccaa 1860
gtaacacagc tttcacaga gcttgacaga gccaatctgc tattaacca gactcaacag 1920
ccttacaggt atctcattga atcagtgcgt cagagagatt ctaagattga ttcactgacg 1980
gaatctattg cacaacttga gaaagatgtc aggaattggc agcaatgaaa cagattctcg 2040
ttaagatgca tagtaaacad tctgagaaca gcttacttct cactaaaaca gaacaaaaac 2100
atgtgacaga aatcagaaa tcaaagactt tgaatgtgcc taaagagcat gaagacaata 2160
tatttacacc taaaccaaca ctctttacta aaaaagaagc acctgagtgg tctaagaaac 2220
aaaagatgaa gacctagtgt tttggatggg aagcacctgt agaccattat atactcctga 2280
agttcttttt ctgatggaag ggcgaattct gcagatatcc atcacactgg cggccgctcg 2340
agcatgcac tagagggccc aattcgccct atagtgagtc gtattacaaa tcacggccgt 2400
cag 2403

```

<210> 22

<211> 1880

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: Fragment

<400> 22

```

ccgagctcgg atccactagt aacggccgcc agtgtgctgg aattcgccct tctgccttga 60
aatcccttgt tgagggccta caaccttgtg cttccgactg gagacgcctt tgggccctcg 120
gtgtctgcac tggctgctgg tcaaggcttc agtgtggagt aattgacact ttcgagaata 180
ttaaaatcaa attagagaag aaaactgata cataataata aaaatgtctc gaaaaatttc 240
aaaggagtca aaaaaagtga acatctctag ttctctggaa tctgaagata ttagtttaga 300
aacaacagtt cctacggatg atatttcctc atcagaagag cgagagggca aagtcagaat 360
caccaggcag ctaattgaac gaaaagaact acttcataat attcagttac taaaaattga 420
gctatccag aaaactatga tgatcgacaa ttgaaaagt gattatctta caaagattga 480
agaattggag gagaaactta atgatgcact tcaccagaag cagctactaa cattgagatt 540
agacaaccaa ttggcttttc aacagaaaga tgccagcaaa tatcaagaat taatgaaaca 600
agaaatggaa accattttgt tgagacagaa acaactagaa gagacaaatc ttcagctaag 660
agaaaaagct ggagatgttc gtcgaaacct gcgtgacttt gagttgacag aagagcaata 720
tattaaatta aaagcttttc ctgaagatca gctttctatt cctgaatatg tatctgttcg 780
cttctatgag ctagtgaatc cattaagaaa ggaaatctgt gaactacaag tgaaaaagaa 840
tatcttagca gaagaattaa gtacaaacaa aaaccaactg aagcagctga cagagacata 900
tgaggaagat cgaaaaaact actctgaagt tcaaattaga tgtcaacggt tggccttaga 960
attagcagac acaaaacagt taattcagca aggtgactac cgtcaagaga actatgataa 1020
agtcaagagt gaacgtgatg cacttgaaca ggaagtaatt gagcttagga gaaaacatga 1080
aatacttgaa gcctctcaca tgattcaaac aaaagaacga agtgaattat caaaagagag 1140
accattataa aacagaatat gaaaataaac tacatgatga actagaacaa atcagattga 1200
aaaccaacca agaaattgat caacttcgaa atgcctctag ggaaatgtat gaacgagaaa 1260
acagaaatct ccgagaagca agggataatg ctgtggctga aaaggaacga gcagtgatgg 1320
ctgaaaagga tgcttttaga aaacacgatc agctcttaga caggttttta ccaaagaatt 1380
ttatagtctc caagcctctt ctgaaaaacg cattactgaa cttcaagcac agaactcaga 1440
gcatcaagca aggctagaca ttatgagaa actggaaaaa gagcttgatg aaataataat 1500
gcaaactgca gaaagaattg gcagcaatga aacagattct cgttaagatg catagtaaac 1560
attctgagaa cagcttactt ctactaaaa cagaaccaa acatgtgaca gaaaatcaga 1620
aatcaaagac tttgaatgtg cctaaagagc atgaagacaa tatatttaca cctaaaccaa 1680
cactctttac taaaaaagaa gcacctgagt ggtctaagaa acaaaagatg aagacctagt 1740
gttttgatg ggaagcacct gtagaccatt atatactcct gaagttcttt ttctgatgga 1800
agggcgaatt ctgcagatat ccatacact ggcgccgct cgagcatgca tctagagggc 1860
ccaattcgcc ctatagttag                                     1880

```

<210> 23

<211> 157

<212> PRT

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: Fragment

<400> 23

Met Ser Arg Lys Ile Ala Lys Glu Pro Lys Lys Val Asn Ile Ser Ser
 1 5 10 15

Ser Leu Glu Ser Glu Asp Ile Ser Leu Glu Thr Thr Ile His Thr Asp
 20 25 30

Asp Val Ser Ser Ser Glu Glu Arg Glu Gly Lys Val Lys Ile Thr Arg
 35 40 45

Gln Leu Ile Glu Arg Lys Glu Ile Leu His Asn Ile Gln Leu Leu Lys
 50 55 60

Ile Glu Leu Ser Gln Lys Asn Met Met Ile Asp Asn Leu Lys Met Asp
 65 70 75 80

Tyr Leu Thr Lys Glu Phe Ala Ala Met Lys Gln Ile Ile Ile Asn Met
 85 90 95

Cys Ser Lys His Ser Glu Asn Asn Leu Phe Leu Thr Lys Met Glu Ser
 100 105 110

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

His Glu Glu Asn Ile Phe Ile Pro Lys Pro Thr Leu Phe Thr Lys Lys
 130 135 140

Glu Ala Gln Glu Trp Pro Lys Ser Gln Lys Met Lys Thr
 145 150 155

<210> 24

<211> 741

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: Fragment

<400> 24

```

gtgaattgta atacgactca ctatagggcg aattggggccc tctagatgca tgctcgagcg 60
gccgccagtg tgatggatat ctgcagaatt cgcccttatg tctcgcaaaa ttgccaagga 120
accgaaaaaa gtaaataatct ctagttctct ggagtctgaa gatattagtt tggaaacaac 180
cattcataca gatgatgtct catcatcaga ggagcgagaa ggtaaagtca aaatcaccag 240
gcagttaatc gaaagaaaag agatacttca taatattcag ttactgaaaa tcgagctatc 300
ccagaaaaac atgatgatcg acaacttgaa aatggattat cttacaaagg aatttgcagc 360
tatgaagcag atcatcatta atatgtgtag taaacattct gagaacaact tatttcttac 420
gaaaatggaa tcaaaaagtg tgacagaaaa tcaagcaaag actttgaata tgccaagaga 480
acatgaagag aatatattta taccgaagcc aacgctcttt actaaaaagg aagcacaaga 540
gtggcccaag agtcagaaga tgaagaccta gtgtttggtg ttgaagaaag ctggagccta 600
accagccag gccctcggct ctccattgga acaggcctgt gttatcatgt actcctgaag 660
tgcaatgtct gttggaaggc cgaattccag cacactggcg gccgttacta gtggatccga 720
gctcggtacc aagcttggcg t                                     741

```

<210> 25

<211> 256

<212> PRT

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: Fragment

<400> 25

```

Met Ser Arg Lys Ile Ala Lys Glu Pro Lys Lys Val Asn Ile Ser Ser
  1               5               10               15

```

```

Ser Leu Glu Ser Glu Asp Ile Ser Leu Glu Thr Thr Ile His Thr Asp
          20               25               30

```

```

Asp Val Ser Ser Ser Glu Glu Arg Glu Gly Lys Val Lys Ile Thr Arg
          35               40               45

```

```

Gln Leu Ile Glu Arg Lys Glu Ile Leu His Asn Ile Gln Leu Leu Lys
          50               55               60

```

DE 601 27 442 T2 2007.11.29

Ile Glu Leu Ser Gln Lys Asn Met Met Ile Asp Asn Leu Lys Met Asp
65 70 75 80

Tyr Leu Thr Lys Ile Glu Glu Leu Glu Glu Lys Leu Asn Asp Ala Leu
85 90 95

His Gln Lys Gln Leu Leu Thr Leu Arg Leu Asp Asn Gln Leu Thr Ile
100 105 110

Gln Gln Lys Asp Ala Lys Lys Tyr Gln Glu Leu Met Lys Gln Glu Met
115 120 125

Glu Thr Ile Leu Leu Arg Gln Arg Asp Ala Lys Ile Asp Ser Leu Met
130 135 140

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

Lys Ser Ala Leu Leu Gln Thr Lys Asn Gln Met Ala Leu Asp Leu Glu
165 170 175

Gln Leu Leu Ser His Arg Glu Glu Phe Ala Ala Met Lys Gln Ile Ile
180 185 190

Ile Asn Met Cys Ser Lys His Ser Glu Asn Asn Leu Phe Leu Thr Lys
195 200 205

Met Glu Ser Lys Ser Val Thr Glu Asn Gln Ala Lys Thr Leu Asn Met
210 215 220

Pro Arg Glu His Glu Glu Asn Ile Phe Ile Pro Lys Pro Thr Leu Phe
225 230 235 240

Thr Lys Lys Glu Ala Gln Glu Trp Pro Lys Ser Gln Lys Met Lys Thr
245 250 255

<210> 26

<211> 875

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: Fragment

<400> 26

```

atgtctcgca aaattgccaa ggaacccaaaa aaagtaaata tctctagttc tctggagtct 60
gaagatatta gtttggaac aaccattcat acagatgatg tctcatcatc agaggagcga 120
gaaggtaaaag tcaaaatcac caggcagtta atcgaaagaa aagagatact tcataatatt 180
cagttactga aaatcgagct atcccagaaa aacatgatga tcgacaactt gaaaatggat 240
tatcttaciaa agattgagga gctagaggaa aaacttaatg acgcccttca ccagaagcag 300
ctgctaactt tgcgattaga caatcagttg actattcaac agaaagatgc caaaaaatat 360
caagaactaa tgaacaaga aatggaaacc attttattgc gacagagaga tgccaagatt 420
gactcactga tgaagtctac agtcaactt gagaaagatg tcagcaactt aaataaagag 480
aagtcagccc tgctgcagac gaagaaccag atggcactgg atctggagca gtccttcagt 540
caccgcgagg aatttgcagc tatgaagcag atcatcatta atatgtgtag taaacattct 600
gagaacaact tatttcttac gaaaatggaa tcaaaaagtg tgacagaaaa tcaagcaaag 660
actttgaata tgccaagaga acatgaagag aatatattta taccgaagcc aacgctcttt 720
actaaaaagg aagcacaaga gtggcccaag agtcagaaga tgaagaccta gtgtttggtg 780
ttgaagaaag ctggagccta acccagccag gccctcggct ctccattggg acaggcctgt 840
gttatcatgt actcctgaag tgcaatgtct gttgg                                     875

```

<210> 27

<211> 229

<212> PRT

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: Fragment

<400> 27

```

Met Ser Arg Lys Ile Ala Lys Glu Pro Lys Lys Val Asn Ile Ser Ser
  1              5              10              15

Ser Leu Glu Ser Glu Asp Ile Ser Leu Glu Thr Thr Ile His Thr Asp
                20              25              30

```

DE 601 27 442 T2 2007.11.29

Asp	Val	Ser	Ser	Ser	Glu	Glu	Arg	Glu	Gly	Lys	Val	Lys	Ile	Thr	Arg
		35					40					45			
Gln	Leu	Ile	Glu	Arg	Lys	Glu	Ile	Leu	His	Asn	Ile	Gln	Leu	Leu	Lys
		50					55					60			
Ile	Glu	Leu	Ser	Gln	Lys	Asn	Met	Met	Ile	Asp	Asn	Leu	Lys	Met	Asp
		65				70				75					80
Tyr	Leu	Thr	Lys	Leu	Asp	Arg	Ala	Asn	Ser	Leu	Leu	Asn	Gln	Thr	Gln
					85					90					95
Gln	Pro	Tyr	Arg	Tyr	Leu	Ile	Glu	Ser	Val	Arg	Gln	Arg	Asp	Ala	Lys
					100					105					110
Ile	Asp	Ser	Leu	Met	Lys	Ser	Thr	Ala	Gln	Leu	Glu	Lys	Asp	Val	Ser
					115					120					125
Asn	Leu	Asn	Lys	Glu	Lys	Ser	Ala	Leu	Leu	Gln	Thr	Lys	Asn	Gln	Met
					130					135					140
Ala	Leu	Asp	Leu	Glu	Gln	Leu	Leu	Ser	His	Arg	Glu	Glu	Phe	Ala	Ala
					145					150					160
Met	Lys	Gln	Ile	Ile	Ile	Asn	Met	Cys	Ser	Lys	His	Ser	Glu	Asn	Asn
						165				170					175
Leu	Phe	Leu	Thr	Lys	Met	Glu	Ser	Lys	Ser	Val	Thr	Glu	Asn	Gln	Ala
					180					185					190
Lys	Thr	Leu	Asn	Met	Pro	Arg	Glu	His	Glu	Glu	Asn	Ile	Phe	Ile	Pro
					195					200					205
Lys	Pro	Thr	Leu	Phe	Thr	Lys	Lys	Glu	Ala	Gln	Glu	Trp	Pro	Lys	Ser
					210					215					220
Gln	Glu	Met	Lys	Thr											
					225										

<210> 28

<211> 908

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: Fragment

<400> 28

```

cctgagctgc tgactgaaga cgccattggt tcttccaaga gtccgggtga agctggtggt 60
atccttatat gcggagttac tgaccattga gagaagattg attcaaataa taaaatgtct 120
cgcaaaattg ccaaggaacc aaaaaaagta aatatctcta gttctctgga gtctgaagat 180
attagtttgg aaacaaccat tcatacagat gatgtctcat catcagagga gcgagaaggt 240
aaagtcaaaa tcaccaggca gttaatcgaa agaaaagaga tacttcataa tattcagtta 300
ctgaaaatcg agctatccca gaaaaacatg atgatcgaca acttgaaaat ggattatctt 360
acaaagcttg acagagccaa ttcactgttg aatcagactc agcagcccta cagatacctc 420
atagagtctg tgcgacagag agatgccaag attgactcac tgatgaagtc tacagctcaa 480
cttgagaaaag atgtcagcaa cttaaataaa gagaagtcag ccctgctgca gacgaagaac 540
cagatggcac tggatctgga gcagctcctc agtcaccgcg aggaatttgc agctatgaag 600
cagatcatca ttaatatgtg tagtaaacad tctgagaaca acttatttct tacgaaaatg 660
gaatcaaaaa gtgtgacaga aaatcaagca aagactttga atatgccaag agaacaatgaa 720
gagaatatat ttatacccaa gccaacgctc ttactaaaa aggaagcaca agagtggccc 780
aagagtcagg agatgaagac ctagtgtttg gtgttgaaga aagctggagc ctaaccagc 840
caggccctcg gctctccatt ggaacaggcc tgtgttatca tgtactcctg aagtgcaatg 900
tctgttgg                                     908

```

<210> 29

<211> 512

<212> PRT

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: Fragment

<400> 29

```

Met Ser Arg Lys Ile Ala Lys Glu Pro Lys Lys Val Asn Ile Ser Ser
  1              5              10              15

Ser Leu Glu Ser Glu Asp Ile Ser Leu Glu Thr Thr Ile His Thr Asp
          20              25              30

```


DE 601 27 442 T2 2007.11.29

Asp Val Ser Ser Ser Glu Glu Arg Glu Gly Lys Val Lys Ile Thr Arg			
35	40	45	
Gln Leu Ile Glu Arg Lys Glu Ile Leu His Asn Ile Gln Leu Leu Lys			
50	55	60	
Ile Glu Leu Ser Gln Lys Asn Met Met Ile Asp Asn Leu Lys Met Asp			
65	70	75	80
Tyr Leu Thr Lys Ile Glu Glu Leu Glu Glu Lys Leu Asn Asp Ala Leu			
85	90	95	
His Gln Lys Gln Leu Leu Thr Leu Arg Leu Asp Asn Gln Leu Thr Ile			
100	105	110	
Gln Gln Lys Asp Ala Lys Lys Tyr Gln Glu Leu Met Lys Gln Glu Met			
115	120	125	
Glu Thr Ile Leu Leu Arg Gln Lys Gln Leu Glu Glu Thr Asn His Gln			
130	135	140	
Leu Arg Glu Lys Ala Gly Asp Val Arg Arg Asn Leu Arg Asp Phe Glu			
145	150	155	160
Leu Thr Glu Glu Gln Tyr Val Lys Leu Lys Ser Phe Pro Glu Asp Gln			
165	170	175	
Leu Ser Ile Pro Glu Tyr Val Ser Ile Arg Phe Tyr Glu Leu Val Asn			
180	185	190	
Pro Leu Arg Lys Glu Val Cys Glu Leu Gln Val Lys Lys Ser Glu Leu			
195	200	205	
Ser Glu Glu Leu Ser Thr Ser Lys Gly Gln Leu Lys Gln Leu Thr Glu			
210	215	220	
Thr Tyr Glu Glu Asp Arg Arg Asn Asn Ala Glu Leu Leu Ile Arg Cys			
225	230	235	240

DE 601 27 442 T2 2007.11.29

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

Gly Asp Tyr Arg Gln Glu Asn Tyr Asp Lys Val Lys Ser Glu Arg Asp
 260 265 270

Ala Leu Glu Gln Asp Val Leu Glu Leu Arg Arg Lys His Glu Val Leu
 275 280 285

Glu Ala Ser His Ile Ala Gln Ala Lys Glu Arg Asn Glu Leu Ser Lys
 290 295 300

Glu Val Ser Ser Leu Gln Gln Thr Val Thr Leu Leu Gln Lys Asp Lys
 305 310 315 320

Asp Tyr Leu Asn Arg Gln Asn Met Glu Leu Ser Val Arg Cys Ala His
 325 330 335

Glu Glu Asp Arg Leu Glu Arg Leu Gln Val Gln Leu Glu Asp Thr Lys
 340 345 350

Lys Ala Arg Glu Glu Met Tyr Glu Lys Tyr Val Thr Ser Arg Asp His
 355 360 365

Tyr Lys Thr Glu Tyr Glu Asn Lys Leu His Asp Glu Leu Glu Gln Ile
 370 375 380

Lys Leu Lys Thr Asn Leu Glu Ile Asp Gln Leu Arg Ser Ala Ser Arg
 385 390 395 400

Glu Met Tyr Glu Arg Glu Asn Arg Asn Leu Arg Glu Ala Arg Asp Asn
 405 410 415

Ala Leu Ala Glu Glu Asn Arg Ala Val Ala Ala Glu Lys Asp Ala Leu
 420 425 430

Gly Lys His Glu Gln Leu Leu Asp Arg Tyr Arg Glu Leu Gln Leu Ser
 435 440 445

Thr Glu Ser Lys Val Ser Glu Phe Leu His Gln Ser Lys Leu Lys Ser

450

455

460

Phe Glu Ser Glu Arg Val Gln Leu Leu Gln Glu Glu Thr Ala Arg Asn

465

470

475

480

Leu Thr Gln Cys Gln Leu Glu Cys Glu Lys Tyr Gln Lys Lys Leu Glu

485

490

495

Thr Lys Lys Glu Ala Gln Glu Trp Pro Lys Ser Gln Lys Met Lys Thr

500

505

510

<210> 30

<211> 1806

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: Fragment

<400> 30

```

gtgaattgta atacgactca ctatagggcg aattgggccc tctagatgca tgctcgagcg 60
gccgccagtg tgatggatat ctgcagaatt cgcccttatg tctcgcaaaa ttgccaagga 120
acaaaaaaaa gtaaatatct ctagttctct ggagtctgaa gatattagtt tggaacaac 180
cattcataca gatgatgtct catcatcaga ggagcgagaa ggtaaagtca aaatcaccag 240
gcagttaatc gaaagaaaag agatacttca taatattcag ttactgaaaa tcgagctatc 300
ccagaaaaac atgatgatcg acaacttgaa aatggattat cttacaaaga ttgaggagct 360
agaggaaaaa cttaatgacg cccttcacca gaagcagctg ctaactttgc gattagacaa 420
tcagttgact attcaacaga aagatgccaa aaaatatcaa gaactaatga aacaagaaat 480
ggaaaccatt ttattgcgac agaagcaact ggaagaaaca aaccatcagc tgagagaaaa 540
ggctggagat gttcgccgaa atctgcgaga ctttgagctg acagaagagc agtatgtgaa 600
gctaaaatct tttccogaag atcaactctc tattcctgaa tatgtatcta ttcgcttcta 660
tgagctcgtg aaccatttaa gaaaggaagt ctgtgagcta caggtgaaga agagtgaact 720
ctctgaagaa ctgagtacaa gtaaaggcca actgaagcag ctgacggaga catatgaaga 780
agatcgaaga aacaacgctg aacttctaata tcgatgtcaa cgtttgacct tagaattagc 840
agacacaaaa cagttagttc agcaagggtga ttaccgtcaa gagaactatg acaagtgaa 900
gagtgaacgc gatgctctgg aacaggacgt actcgagctt agaagaaaac acgaagtact 960

```

tgaagcctct cacatagctc aagctaagga aaggaatgaa ttatcaaagg aggtcagcag 1020
 cctgcagcag acagtcaccc tgctgcagaa ggataaagac tacctcaatc gccaaaacat 1080
 ggaactcagt gtacgctgtg cccatgagga ggatcggctg gaaaggctgc aagttcaact 1140
 ggaagacacc aaaaaggcta gagaagagat gtatgagaaa tatgtcacgt ccagagacca 1200
 ttataaaaaca gaatatgaaa ataaactaca tgatgaactg gaacaaatca aattgaaaac 1260
 taatctagaa attgatcagc ttcgaagtgc ctctagggaa atgtatgaac gagaaaacag 1320
 aaatctccgt gaagcaaggg ataatgcact cgctgaagag aaccgagcag tggcagcgga 1380
 aaaggacgct ctgggaaaagc atgagcagct cctagacagg tacagagaac tccagctcag 1440
 tacagagagc aaggtatctg agtttctcca tcagagcaag ttgaagtctt ttgaaagtga 1500
 gcgtgttcaa ctctgcaag aggaaactgc aagaaatctc acgcagtgcc agttggagtg 1560
 tgaaaaatat cagaagaaat tggagactaa aaaggaagca caagagtggc ccaagagtca 1620
 gaagatgaag acctagtgtt tgggtgttgaa gaaagctgga gcctaaccga gccaggccct 1680
 cggctctcca tcggaacagg cctgtgttat catgtactcc tgaagtgcaa tgtctgttgg 1740
 aagggcgaat tccagcacac tggcggccgt tactagtgga tccgagctcg gtaccaagct 1800
 tggcgt 1806

<210> 31

<211> 569

<212> PRT

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: Fragment

<400> 31

Met Ser Arg Lys Ile Ala Lys Glu Pro Lys Lys Val Asn Ile Ser Ser

1 5 10 15

Ser Leu Glu Ser Glu Asp Ile Ser Leu Glu Thr Thr Ile His Thr Asp

20 25 30

Asp Val Ser Ser Ser Glu Glu Arg Glu Gly Lys Val Lys Ile Thr Arg

35 40 45

Gln Leu Ile Glu Arg Lys Glu Ile Leu His Asn Ile Gln Leu Leu Lys

50 55 60

Ile Glu Leu Ser Gln Lys Asn Met Met Ile Asp Asn Leu Lys Met Asp

65 70 75 80

DE 601 27 442 T2 2007.11.29

Tyr Leu Thr Lys Ile Glu Glu Leu Glu Glu Lys Leu Asn Asp Ala Leu
 85 90 95

His Gln Lys Gln Leu Leu Thr Leu Arg Leu Asp Asn Gln Leu Thr Ile
 100 105 110

Gln Gln Lys Asp Ala Lys Lys Tyr Gln Glu Leu Met Lys Gln Glu Met
 115 120 125

Glu Thr Ile Leu Leu Arg Gln Lys Gln Leu Glu Glu Thr Asn His Gln
 130 135 140

Leu Arg Glu Lys Ala Gly Asp Val Arg Arg Asn Leu Arg Asp Phe Glu
 145 150 155 160

Leu Thr Glu Glu Gln Tyr Val Lys Leu Lys Ser Phe Pro Glu Asp Gln
 165 170 175

Leu Ser Ile Pro Glu Tyr Val Ser Ile Arg Phe Tyr Glu Leu Val Asn
 180 185 190

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

Ser Glu Glu Leu Ser Thr Ser Lys Gly Gln Leu Lys Gln Leu Thr Glu
 210 215 220

Thr Tyr Glu Glu Asp Arg Arg Asn Asn Ala Glu Leu Leu Ile Arg Cys
 225 230 235 240

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

Gly Asp Tyr Arg Gln Glu Asn Tyr Asp Lys Val Lys Ser Glu Arg Asp
 260 265 270

Ala Leu Glu Gln Asp Val Leu Glu Leu Arg Arg Lys His Glu Val Leu
 275 280 285

Glu Ala Ser His Ile Ala Gln Ala Lys Glu Arg Asn Glu Leu Ser Lys

DE 601 27 442 T2 2007.11.29

290

295

300

Glu Val Ser Ser Leu Gln Gln Thr Val Thr Leu Leu Gln Lys Asp Lys
 305 310 315 320

Asp Tyr Leu Asn Arg Gln Asn Met Glu Leu Ser Val Arg Cys Ala His
 325 330 335

Glu Glu Asp Arg Leu Glu Arg Leu Gln Val Gln Leu Glu Asp Thr Lys
 340 345 350

Lys Ala Arg Glu Glu Met Tyr Glu Lys Tyr Val Thr Ser Arg Asp His
 355 360 365

Tyr Lys Thr Glu Tyr Glu Asn Lys Leu His Asp Glu Leu Glu Gln Ile
 370 375 380

Lys Leu Lys Thr Asn Leu Glu Ile Asp Gln Leu Arg Ser Ala Ser Arg
 385 390 395 400

Glu Met Tyr Glu Arg Glu Asn Arg Asn Leu Arg Glu Ala Arg Asp Asn
 405 410 415

Ala Leu Ala Glu Lys Asn Arg Ala Val Ala Ala Glu Lys Asp Ala Leu
 420 425 430

Gly Lys His Glu Gln Leu Leu Asp Arg Tyr Arg Glu Leu Gln Leu Ser
 435 440 445

Thr Glu Ser Lys Val Ser Glu Phe Leu His Gln Ser Lys Leu Lys Ser
 450 455 460

Phe Glu Ser Glu Arg Val Gln Leu Leu Gln Glu Glu Thr Ala Arg Asn
 465 470 475 480

Leu Thr Gln Cys Gln Leu Glu Cys Glu Lys Tyr Gln Lys Lys Leu Glu
 485 490 495

Glu Phe Ala Ala Met Lys Gln Ile Ile Ile Asn Met Cys Ser Lys His
 500 505 510

DE 601 27 442 T2 2007.11.29

Ser Glu Asn Asn Leu Phe Leu Thr Lys Met Glu Ser Lys Ser Val Thr
515 520 525

Glu Asn Gln Ala Lys Thr Leu Asn Met Pro Arg Glu His Glu Glu Asn
530 535 540

Ile Phe Ile Pro Lys Pro Thr Leu Phe Thr Lys Lys Glu Ala Gln Glu
545 550 555 560

Trp Pro Lys Ser Gln Lys Met Lys Thr
565

<210> 32

<211> 86

<212> PRT

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: Fragment

<400> 32

Met Asn Tyr Gln Arg Arg Ser Ala Ala Cys Ser Arg Gln Ser Pro Cys
1 5 10 15

Cys Arg Arg Ile Lys Thr Thr Ser Ile Ala Lys Thr Trp Asn Ser Val
20 25 30

Tyr Ala Val Pro Met Arg Arg Ile Gly Trp Lys Gly Cys Lys Phe Asn
35 40 45

Trp Lys Thr Pro Lys Arg Leu Glu Lys Arg Cys Met Arg Asn Met Ser
50 55 60

Arg Pro Glu Thr Ile Ile Lys Gln Asn Met Lys Ile Asn Tyr Met Met
65 70 75 80

Asn Trp Asn Lys Ser Asn
85

<210> 33

<211> 1963

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: Fragment

<400> 33

```

cgactcacta tagggcgaat tgggccctct agatgcatgc tcgagcggcc gccagtgtga 60
tggatatctg cagaattcgc ctttatgtct cgcaaaattg ccaaggaacc aaaaaagta 120
aatatctcta gttctctgga gtctgaagat attagtttgg aaacaacat tcatacagat 180
gatgtctcat catcagagga gcgagaaggt aaagtcaaaa tcaccaggca gttaatcgaa 240
agaaaagaga tacttcataa tattcagtta ctgaaaatcg agctatccca gaaaaacatg 300
atgatcgaca acttgaaaat ggattatctt acaaagattg aggagctaga ggaaaaactt 360
aatgacgccc ttcaccagaa gcagctgcta actttgcgat tagacaatca gttgactatt 420
caacagaaaag atgcaaaaaa atatcaagaa ctaatgaaac aagaaatgga aaccatttta 480
ttgcgcagaga agcaactgga agaaacaaac catcagctga gagaaaaggc tggagatggt 540
cgccgaaatc tgcgagactt tgagctgaca gaagagcagt atgtgaagct aaaatctttt 600
cctgaagatc aactctctat tcctgaatat gtatctattc gcttctatga gctcgtgaac 660
ccattaagaa aggaagtctg tgagctacag gtgaagaaga gtgaactctc tgaagaactg 720
agtacaagta aaggccaact gaagcagctg acggagacat atgaagaaga tcgaagaaac 780
aacgctgaac ttctaattcg atgtcaacgt ttgaccttag aattagcaga caaaaacag 840
ttagttcagc aagggtgatta cagtcaagag aactatgaca aagtgaagag tgaacgcgat 900
gctctggaac aggacgtact cgagcttaga agaaaacacg aagtacttga agcctctcac 960
atagctcaag ctaaggaaaag gaatgaatta tcaaaggagg tcagcagcct gcagcagaca 1020
gtcacctctg tgcagaagga taaagactac ctcaatcgcc aaaacatgga actcagtgtg 1080
cgctgtgccc atgaggagga tcggctggaa aggctgcaag ttcaactgga agacaccaa 1140
aaggctagag aagagatgta tgagaaatat gtcacgtcca gagaccatta taaaacagaa 1200
tatgaaaata aactacatga tgaactggaa caaatcaaat tgaaaactaa tctagaaatt 1260
gatcagcttc gaagtgcctc tagggaaatg tatgaacgag aaaacagaaa tctccgtgaa 1320
gcaagggata atgcaactgc tgaaaagaac cgagcagtgg cagcggaaaa ggacgctctg 1380
ggaaagcatg agcagctcct agacaggtag agagaactcc agctcagtac agagagcaag 1440
gtatctgagt ttctccatca gagcaagttg aagtcctttg aaagtgagcg tgttcaactc 1500
ctgcaagagg aaactgcaag aaatctcacg cagtgccagt tggagtgtga aaaatatcag 1560
aagaaattgg aggaatttgc agctatgaag cagatcatca ttaatatgtg tagtaaacat 1620
tctgagaaca acttatttct tacgaaaatg gaatcaaaaa gtgtgacaga aaatcaagca 1680
aagactttga atatgccaaag agaacatgaa gagaatatat ttatacccaa gccaacgctc 1740

```


tttactaaaa aggaagcaca agagtggccc aagagtcaga agatgaagac ctagtggttg 1800
 gtgttgaaga aagctggagc ctaaccacagc caggccctcg gctctccatt ggaacaggcc 1860
 tgtgttatca tgtactcctg aagtgcaatg tctgttggaa gggcgaattc cagcacactg 1920
 gcggccgtta ctagtggatc cgagctcggg accaagcttg gcg 1963

<210> 34

<211> 309

<212> PRT

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: Fragment

<400> 34

Met Tyr Glu Lys Tyr Val Thr Ser Arg Asp His Tyr Lys Thr Glu Tyr
 1 5 10 15

Glu Asn Lys Leu His Asp Glu Leu Glu Gln Ile Lys Leu Lys Thr Asn
 20 25 30

Leu Glu Ile Asp Gln Leu Arg Ser Ala Ser Arg Glu Met Tyr Glu Arg
 35 40 45

Glu Asn Arg Asn Leu Arg Glu Ala Arg Asp Asn Ala Leu Ala Glu Lys
 50 55 60

Asn Arg Ala Val Ala Ala Glu Lys Asp Ala Leu Gly Lys His Glu Gln
 65 70 75 80

Leu Leu Asp Arg Tyr Arg Glu Leu Gln Leu Ser Thr Glu Ser Lys Val
 85 90 95

Ser Glu Phe Leu His Gln Ser Lys Leu Lys Ser Phe Glu Ser Glu Arg
 100 105 110

Val Gln Leu Leu Gln Glu Glu Thr Ala Arg Asn Leu Thr Gln Cys Gln
 115 120 125

Leu Glu Cys Glu Lys Tyr Gln Lys Lys Leu Glu Val Leu Thr Lys Glu
 130 135 140

DE 601 27 442 T2 2007.11.29

Phe Tyr Ser Leu Gln Thr Ser Ser Glu Lys Arg Ile Thr Glu Leu Glu
145 150 155 160

Ala Gln Asn Ser Glu His Gln Ala Arg Leu Asp Ile Tyr Glu Lys Leu
165 170 175

Glu Lys Glu Leu Asp Glu Ile Ile Met Gln Thr Ala Glu Ile Glu Asn
180 185 190

Glu Asp Glu Ala Glu Arg Ile Leu Tyr Ser Tyr Gly Tyr Gly Ala Asn
195 200 205

Val Pro Thr Thr Ala Lys Arg Arg Leu Lys Gln Ser Val His Leu Ala
210 215 220

Arg Arg Val Leu Gln Leu Glu Lys Gln Asn Ser Leu Ile Leu Lys Asp
225 230 235 240

Leu Glu Gln Ile Ile Ile Asn Met Cys Ser Lys His Ser Glu Asn Asn
245 250 255

Leu Phe Leu Thr Lys Met Glu Ser Ile Ser Val Thr Glu Asn Gln Thr
260 265 270

Lys Thr Leu Asn Met Pro Arg Glu His Glu Glu Asn Ile Phe Ile Pro
275 280 285

Lys Pro Thr Leu Phe Thr Lys Lys Glu Ala Gln Glu Trp Pro Lys Ser
290 295 300

Gln Lys Met Lys Thr
305

<210> 35

<211> 1169

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: Fragment

<400> 35

```

ggttgtcttg gtgaccgatc ctaacgggtcc ggtagccccg agatacctgt tgaggggtgg 60
cagcctgagc tgctgactga agacaccaaaa aaggctagag aagagatgta tgagaaatat 120
gtcacgtcca gagaccatta taaaacagaa tatgaaaata aactacatga tgaactggaa 180
caaatcaaat tgaaaactaa tctagaaatt gatcagcttc gaagtgcctc tagggaaatg 240
tatgaacgag aaaacagaaa tctccgtgaa gcaagggata atgcactcgc tgaaaagaac 300
cgagcagtgg cagcggaaaa ggacgctctg ggaaagcatg agcagctcct agacaggtac 360
agagaactcc agctcagtac agagagcaag gtatctgagt ttctccatca gagcaagttg 420
aagtcctttg aaagtgagcg tgttcaactc ctgcaagagg aaactgcaag aaatctcacg 480
cagtgccagt tggagtgtga aaaatatcag aagaaattgg aggttttaac taaagaattt 540
tatagtctcc aaacttcttc tgaaaaacgc attaccgaac tcgaggcaca gaactcagag 600
catcaggcaa ggtagacat ttacgagaag ttggaaaagg agcttgatga gataataatg 660
caaacagcag aaattgaaaa tgaagatgag gctgaaagaa ttctttattc ctatggttat 720
ggtgctaattg ttcccacaac agctaaaaga cgactaaagc aaagtgtcca cttggcaaga 780
agagttcttc agttagaaaa acaaaattca ttaattttta aagacctgga gcagatcatc 840
attaatatgt gtagtaaaca ttctgagaac aacttatttc ttacgaaaat ggaatcaata 900
agtgtgacag aaaatcaaac aaagactttg aatatgcaa gagaacatga agagaatata 960
tttataccca agccaacgct ctttactaaa aaggaagcac aagagtggcc caagagtcag 1020
aagatgaaga ctagtgttt ggtgttgaag aaagctggag cctaaccag ccaggccctc 1080
ggctctccat tggaacaggc ctgtgttatc atgtactcct gaagtgcaat gtctgttggg 1140
gagaaaggct cacttcaatc atgtacttg 1169

```

<210> 36

<211> 641

<212> PRT

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: Fragment

<400> 36

Met Ser Arg Lys Ile Ala Lys Glu Pro Lys Lys Val Asn Ile Ser Ser

1

5

10

15

Ser Leu Glu Ser Glu Asp Ile Ser Leu Glu Thr Thr Ile His Thr Asp

20

25

30

DE 601 27 442 T2 2007.11.29

Asp Val Ser Ser Ser Glu Glu Arg Glu Gly Lys Val Lys Ile Thr Arg
35 40 45

Gln Leu Ile Glu Arg Lys Glu Ile Leu His Asn Ile Gln Leu Leu Lys
50 55 60

Ile Glu Leu Ser Gln Lys Asn Met Met Ile Asp Asn Leu Lys Met Asp
65 70 75 80

Tyr Leu Thr Lys Ile Glu Glu Leu Glu Glu Lys Leu Asn Asp Ala Leu
85 90 95

His Gln Lys Gln Leu Leu Thr Leu Arg Leu Asp Asn Gln Leu Thr Ile
100 105 110

Gln Gln Lys Asp Ala Lys Lys Tyr Gln Glu Leu Met Lys Gln Glu Met
115 120 125

Glu Thr Ile Leu Leu Arg Gln Lys Gln Leu Glu Glu Thr Asn His Gln
130 135 140

Leu Arg Glu Lys Ala Gly Asp Val Arg Arg Asn Leu Arg Asp Phe Glu
145 150 155 160

Leu Thr Glu Glu Gln Tyr Val Lys Leu Lys Ser Phe Pro Glu Asp Gln
165 170 175

Leu Ser Ile Pro Glu Tyr Val Ser Ile Arg Phe Tyr Glu Leu Val Asn
180 185 190

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

Ser Glu Glu Leu Ser Thr Ser Lys Gly Gln Leu Lys Gln Leu Thr Glu
210 215 220

Thr Tyr Glu Glu Asp Arg Arg Asn Asn Ala Glu Leu Leu Ile Arg Cys
225 230 235 240

Gln Arg Leu Thr Leu Glu Leu Ala Asp Thr Lys Gln Leu Val Gln Gln

DE 601 27 442 T2 2007.11.29

245

250

255

Gly Asp Tyr Arg Gln Glu Asn Tyr Asp Lys Val Lys Ser Glu Arg Asp
 260 265 270

Ala Leu Glu Gln Asp Val Leu Glu Leu Arg Arg Lys His Glu Val Leu
 275 280 285

Glu Ala Ser His Ile Ala Gln Ala Lys Glu Arg Asn Glu Leu Ser Lys
 290 295 300

Glu Val Ser Ser Leu Gln Gln Thr Val Thr Leu Leu Gln Lys Asp Lys
 305 310 315 320

Asp Tyr Leu Asn Arg Gln Asn Met Glu Leu Ser Val Arg Cys Ala His
 325 330 335

Glu Glu Asp Arg Leu Glu Arg Leu Gln Val Gln Leu Glu Asp Thr Lys
 340 345 350

Lys Ala Arg Glu Glu Met Tyr Glu Lys Tyr Val Thr Ser Arg Asp His
 355 360 365

Tyr Lys Thr Glu Tyr Glu Asn Lys Leu His Asp Glu Leu Glu Gln Ile
 370 375 380

Lys Leu Lys Thr Asn Leu Glu Ile Asp Gln Leu Arg Ser Ala Ser Arg
 385 390 395 400

Glu Met Tyr Glu Arg Glu Asn Arg Asn Leu Arg Glu Ala Arg Asp Asn
 405 410 415

Ala Leu Ala Glu Lys Asn Arg Ala Val Ala Ala Lys Lys Asp Ala Leu
 420 425 430

Gly Lys His Glu Gln Leu Leu Asp Arg Tyr Arg Glu Leu Gln Leu Ser
 435 440 445

Thr Glu Ser Lys Val Ser Glu Phe Leu His Gln Ser Lys Leu Lys Ser
 450 455 460

DE 601 27 442 T2 2007.11.29

Phe Glu Ser Glu Arg Val Gln Leu Leu Gln Glu Glu Thr Ala Arg Asn
465 470 475 480

Leu Thr Gln Cys Gln Leu Glu Cys Glu Lys Tyr Gln Lys Lys Leu Glu
485 490 495

Leu Asp Arg Ala Asn Ser Leu Leu Asn Gln Thr Gln Gln Pro Tyr Arg
500 505 510

Tyr Leu Ile Glu Ser Val Arg Gln Arg Asp Ala Lys Ile Asp Ser Leu
515 520 525

Met Lys Ser Thr Ala Gln Leu Glu Glu Asp Val Ser Asn Leu Asn Lys
530 535 540

Glu Lys Ser Ala Leu Leu Gln Thr Lys Asn Gln Met Ala Leu Asp Leu
545 550 555 560

Glu Gln Leu Leu Ser His Arg Glu Glu Phe Ala Ala Met Lys Gln Ile
565 570 575

Ile Ile Asn Met Cys Ser Lys His Ser Glu Asn Asn Leu Phe Leu Thr
580 585 590

Lys Met Glu Ser Lys Ser Val Thr Glu Asn Gln Ala Lys Thr Leu Asn
595 600 605

Met Pro Arg Glu His Glu Glu Asn Ile Phe Ile Pro Lys Pro Thr Leu
610 615 620

Phe Thr Lys Lys Glu Ala Gln Glu Trp Pro Lys Ser Gln Lys Met Lys
625 630 635 640

Thr

<210> 37

<211> 2144

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: Fragment

<400> 37

```

cctgagctgc tgactgaaga cgccattggt tcttccaaga gtccgggtga agctggtggt 60
atccttatat gcggagttac tgaccattga gagaagattg attcaaataa taaaatgtct 120
cgcaaaattg ccaaggaacc aaaaaaagta aatatctcta gttctctgga gtctgaagat 180
attagtttgg aaacaacccat tcatacagat gatgtctcat catcagagga gcgagaaggt 240
aaagtcaaaa tcaccaggca gttaatcgaa agaaaagaga tacttcataa tattcagtta 300
ctgaaaatcg agctatccca gaaaaacatg atgatcgaca acttgaaaat ggattatctt 360
acaaagattg aggagctaga ggaaaaactt aatgacgccc ttcaccagaa gcagctgcta 420
actttgcgat tagacaatca gttgactatt caacagaaag atgccaaaaa atatcaagaa 480
ctaataaaac aagaaatgga aaccatttta ttgcgacaga agcaactgga agaaacaaac 540
catcagctga gagaaaaggc tggagatggt cgccgaaatc tgcgagactt tgagctgaca 600
gaagagcagt atgtgaagct aaaatctttt cctgaagatc aactctctat tcttgaatat 660
gtatctattc gcttctatga gctcgtgaac ccattaagaa aggaagtctg tgagctacag 720
gtgaagaaga gtgaactctc tgaagaactg agtacaagta aaggccaact gaagcagctg 780
acggagacat atgaagaaga tcgaagaaac aacgctgaac ttctaattcg atgtcaacgt 840
ttgaccttag aattagcaga caaaaaacag ttagttcagc aaggtgatta ccgtcaagag 900
aactatgaca aagtgaagag tgaacgcgat gctctggaac aggacgtact cgagcttaga 960
agaaaacacg aagtacttga agcctcacac atagctcaag ctaaggaaag gaatgaatta 1020
tcaaaggagg tcagcagcct gcagcagaca gtcacctgc tgcagaagga taaagactac 1080
ctcaatcgcc aaaacatgga actcagtgtg cgctgtgccc atgaggagga tcggttgga 1140
aggctgcaag ttcaactgga agacaccaa aaggctagag aagagatgta tgagaaatat 1200
gtcacgtcca gagaccatta taaaacagaa tatgaaaata aactacatga tgaactggaa 1260
caaatcaaat tgaaaactaa tctagaaatt gatcagcttc gaagtgcctc tagggaaatg 1320
tatgaacgag aaaacagaaa tctccgtgaa gcaagggata atgcactcgc tgaaaagaac 1380
cgagcagtgg cagcgaaaaa ggacgctctg ggaaagcatg agcagctcct agacaggtac 1440
agagaactcc agctcagcac agagagcaag gtatctgagt ttctccatca gagcaagttg 1500
aagtcctttg aaagtgagcg tgttcaactc ctgcaagagg aaactgcaag aaatctcacg 1560
cagtgccagt tggagtgtga aaaatatcag aagaaattgg agcttgacag agccaattca 1620
ctgttgaatc agactcagca gccctacaga tacctcatag agtctgtgag acagagagat 1680
gccaagattg actcactgat gaagtctaca gctcaacttg aggaagatgt cagcaactta 1740
aataaagaga agtcagccct gctgcagacg aagaaccaga tggcactgga tctggagcag 1800
ctcctcagtc accgcgagga atttgcagct atgaagcaga tcatcattaa tatgtgtagt 1860
aaacattctg agaacaactt atttcttacg aaaatggaat caaaaagtgt gacagaaaat 1920
caagcaaaga ctttgaatat gccaaagaga catgaagaga atatatttat acccaagcca 1980

```

```

acgctcttta ctaaaaagga agcacaagag tggcccaaga gtcagaagat gaagacctag 2040
tgtttggtgt tgaagaagga tggagcctaa ccagccagg cctcggctc tccattggaa 2100
caggcctgtg ttatcatgta ctctgaagt gcaatgtctg ttgg                               2144

```

Patentansprüche

1. Verfahren zur Diagnostizierung eines Tumors bei einem Patienten, welches Verfahren das Messen der Konzentration von PIBF (Progesteron-induzierter Blockierungs-Faktor) oder eines Derivats davon oder Fragments davon in einer vom Patienten entnommenen Probe und die Bestimmung, ob die PIBF-Konzentration in der Probe über oder unter einem vorbestimmten Schwellenwert liegt, umfasst, wobei die Konzentration über dem Schwellenwert einen Patienten mit einem Tumor identifiziert.
2. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass der Tumor ein Epithel-Carcinom, insbesondere ein Lungen-Carcinom, ein Colon-Carcinom oder ein Brust-Carcinom ist.
3. Verfahren nach Anspruch 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, dass die Probe eine Körperflüssigkeit, insbesondere Harn oder Serum ist.
4. Verfahren nach Anspruch 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, dass die Probe eine Gewebeprobe ist.
5. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 4, dadurch gekennzeichnet, dass der Schwellenwert die Konzentration des PIBF in einer Probe einer gesunden Person ist.
6. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 5, dadurch gekennzeichnet, dass der Schwellenwert durch Messen der PIBF-Konzentration in mindestens einer gesunden Person parallel zur Bestimmung der PIBF-Konzentration in einer Probe des Patienten bestimmt wird.
7. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 6, dadurch gekennzeichnet, dass als positive Kontrolle die Konzentration von PIBF oder eines Derivats davon oder eines Fragments davon in der Probe, die eine festgelegte Konzentration von PIBF oder eines Derivats davon oder eines Fragments davon aufweist, gemessen wird, parallel zur Bestimmung der Konzentration des PIBF in der Probe des Patienten.
8. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 7, dadurch gekennzeichnet, dass die PIBF-Konzentration in der Probe immunologisch, insbesondere durch einen konkurrierenden Test, durch einen Sandwich-Test, durch Immunfärbung oder durch Kombinationen dieser Methoden gemessen wird.
9. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 8, dadurch gekennzeichnet, dass die PIBF-Konzentration in der Probe indirekt, durch Messung der Konzentration der PIBF-mRNA in der Probe, gemessen wird.
10. Verfahren zur Bestimmung der positiven oder negativen Progression eines Tumors bei einem Patienten, welches die Diagnostizierung eines Tumors bei einem Patienten gemäß einem Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 9 und die Feststellung, ob die gemessene Konzentration des PIBF oder eines Derivats davon oder eines Fragments davon in der Probe über oder unter mindestens einer zuvor gemessenen Konzentration von PIBF oder einem Derivat davon oder einem Fragment davon in mindestens einer zuvor vom selben Patienten genommenen Probe liegt, wobei eine über der zuvor gemessenen Konzentration liegende Konzentration eine positive Progression identifiziert.
11. Verwendung eines anti-PIBF-Antikörpers, vorzugsweise eines monoklonalen Antikörpers oder eines Fragments davon bei einem Verfahren nach einem der Ansprüche 8 bis 10.
12. Verwendung von PIBF oder einem Derivat davon oder einem Fragment davon bei einem Verfahren nach einem der Ansprüche 7 bis 10.
13. Verwendung nach Anspruch 12, dadurch gekennzeichnet, dass der PIBF ein rekombinanter PIBF ist.
14. Set, umfassend ein erstes Reagens, das mindestens einen anti-PIBF-Antikörper oder ein Fragment desselben aufweist, und ein zweites Reagens, das PIBF oder ein Derivat davon oder ein Fragment davon mit einer bestimmten Konzentration aufweist.

15. Set nach Anspruch 14, dadurch gekennzeichnet, dass es eine feste Phase aufweist, an die der mindestens eine anti-PIBF-Antikörper oder das Fragment davon oder das PIBF oder das Derivat davon oder das Fragment davon gebunden ist.

16. Set nach Anspruch 14 oder 15, dadurch gekennzeichnet, dass der PIBF rekombinant ist.

17. Set nach einem der Ansprüche 14 bis 16, dadurch gekennzeichnet, dass es mindestens ein weiteres Reagens umfasst, welches einen zweiten anti-PIBF-Antikörper oder ein Fragment davon aufweist, der (das) an ein Epitop des PIBF bindet, welches von dem vom ersten anti-PIBF-Antikörper oder seinem Fragment erkannten Epitop verschieden ist.

18. Set nach einem der Ansprüche 14 bis 17 zur Diagnostizierung eines Tumors bei einem Patienten bzw. zur Feststellung der Progression eines Tumors bei einem Patienten.

19. Verwendung eines anti-PIBF-Antikörpers, vorzugsweise eines monoklonalen anti-PIBF-Antikörpers, insbesondere eines humanisierten anti-PIBF-Antikörpers oder eines Fragments davon zur Herstellung eines anti-Tumor-Medikaments.

20. Verwendung nach Anspruch 19, dadurch gekennzeichnet, dass der Antikörper ein Einzelketten-Antikörper ist.

21. Verwendung nach Anspruch 19 oder 20, dadurch gekennzeichnet, dass der Antikörper ein an ihm haftendes Molekül aufweist.

22. Verwendung nach Anspruch 21, dadurch gekennzeichnet, dass das Molekül eine toxische Substanz ist, insbesondere ein Radionuklid, ein chemotherapeutischer Arzneistoff oder ein Toxin, bzw. ein Prodrug.

23. Verwendung von PIBF oder eines Derivats davon oder eines Fragments davon zur Herstellung eines Anti-Tumor-Medikaments.

24. Verwendung nach Anspruch 23, dadurch gekennzeichnet, dass das Medikament ein Vakzin ist.

25. Verwendung nach Anspruch 24, dadurch gekennzeichnet, dass das Vakzin weiters ein Adjuvans aufweist.

26. Verwendung nach Anspruch 23 oder 24, dadurch gekennzeichnet, dass der PIBF oder das Derivat davon oder das Fragment davon rekombinant ist.

27. Verwendung nach Anspruch 23 bis 24, dadurch gekennzeichnet, dass der PIBF oder das Derivat davon oder das Fragment davon ein chemisch synthetisiertes Molekül ist.

28. Verwendung eines Polynukleotids, das für PIBF oder ein Derivat davon oder Fragment davon oder für ein PIBF-antisense-Molekül codiert, zur Herstellung eines Anti-Tumor-Medikaments.

29. Rekombinantes Protein mit einer Progesteron-induzierten, immunmodulierenden Protein(PIBF)-Aktivität, welches

- die Aminosäuresequenz gemäß SEQ.ID.NO. 1 oder
- eine Aminosäuresequenz mit einer Aminosäure-Identität von mindestens 98% mit der Sequenz gemäß SEQ.ID.NO. 1, wie mittels FAST/A-Algorithmus bestimmt, oder
- eine Aminosäuresequenz mit einer Aminosäure-Identität von mindestens 95% mit der Sequenz von Aminosäurerest 580 bis 630 von SEQ.ID.NO. 1, wie mittels FAST/A-Algorithmus bestimmt, und
- eine PIBF-Aktivität von mindestens 50% des natürlichen Human-PIBF-Moleküls aufweist.

30. Rekombinantes Protein nach Anspruch 29, dadurch gekennzeichnet, dass es eine Aminosäuresequenz, wie durch die Aminosäurereste 300 bis 350 in SEQ.ID.NO. 1 angegeben, aufweist.

31. Rekombinantes Protein nach Anspruch 29 oder 30, dadurch gekennzeichnet, dass es eine Aminosäuresequenz, wie durch die Aminosäurereste 580 bis 630 in SEQ.ID.NO. 1 angegeben, aufweist.

32. Protein mit PIBF-Aktivität, welches umfasst:

- die Aminosäuresequenz gemäß SEQ.ID.NO. 4 oder
- eine Aminosäure mit einer Aminosäure-Identität von mindestens 90%, vorzugsweise mindestens 95%, noch mehr bevorzugt mindestens 99% mit der Sequenz gemäß SEQ.ID.NO. 4, wie mittels FAST/A-Algorithmus bestimmt.

33. Protein, dadurch gekennzeichnet, dass es eine Aminosäuresequenz mit einer Identität von mindestens 85%, vorzugsweise mindestens 90%, noch mehr bevorzugt mindestens 95%, wie mittels FAST/A-Algorithmus bestimmt, mit einer Sequenz ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus SEQ.ID.NO. 6, 8, 10, 14, 15, 17, 19, 20, 23, 25, 27, 29, 31, 32, 34 und 36 aufweist, wobei dieses Protein ein alternativ prozessiertes PIBF-Protein ist.

34. Nukleinsäure-Molekül, das für ein rekombinantes Protein mit einer PIBF-Aktivität nach einem der Ansprüche 29 bis 32 codiert.

35. Nukleinsäure-Molekül, das für ein alternativ prozessiertes PIBF-Protein codiert, dadurch gekennzeichnet, dass es eine Nukleinsäuresequenz aufweist, die eine Identität von mindestens 80%, vorzugsweise mindestens 90%, noch mehr bevorzugt mindestens 95% hat mit

- einer Sequenz gewählt aus der Gruppe bestehend aus SEQ.ID.NO. 7, 9, 11, 12, 13, 16, 18, 21, 22, 24, 26, 28, 30, 33, 35 und 37 oder
- einer Sequenz, die unter stringenten Bedingungen mit einer der obigen Sequenzen hybridisiert, oder
- einer Sequenz, die infolge des genetischen Codes zu einer der obigen Sequenzen degeneriert ist.

36. Nukleinsäure-Vektor, umfassend eine Nukleinsäuresequenz nach Anspruch 34 oder 35 und ein geeignetes Regulierungselement.

37. Nukleinsäure-Vektor nach Anspruch 36, dadurch gekennzeichnet, dass er weiters einen Selektions-Marker aufweist.

38. Zelle, umfassend einen Vektor nach einem der Ansprüche 34 bis 36.

Es folgen 17 Blatt Zeichnungen

Anhängende Zeichnungen

X Z Y
 1 50 100
 A MSRKISKESSKVNISSESSSEDI SLETTIPDDSSSEERECKVTRQOLIERGELLHNQOLKIELSOKTMMIDNLDVLTKEELEEKLNDALHQKQ
 B MSRKIAKEPKKVNISSESSSEDI SLETTIPDDSSSEERECKVTRQOLIERGELLHNQOLKIELSOKTMMIDNLDVLTKEELEEKLNDALHQKQ
 C HITHEPRQINISSESSSEDI SLETTIPDDSSSEERECKVTRQOLIERGELLHNQOLKIELSOKTMMIDNLDVLTKEELEEKLNDALHQKQ
 150 200
 A LLTLRLDNQLAFOCKDASKYQELMKOENETTLRQKQDEETNLQUREKAGDVRRSLRDFELTEEQYIKLKAFPEDQLSIPEYVSVRFYELVNPRLKSECE
 B LLTLRLDNQLTIOCKDASKYQELMKOENETTLRQKQDEETNLQUREKAGDVRRSLRDFELTEEQYIKLKAFPEDQLSIPEYVSVRFYELVNPRLKSECE
 C LLTLRLDNQSTIOCKD
 250 300
 A LQVKKNILAEELSTNKQOLKQLTETVEDRKNYSEYQIRCOBNELEADTKOLFOGSDVROENYDKVKSARDALQEQVIELRRKHEILEASHMIQTKERS
 C LQVKKSELEEEESTSKGQKQLTETVEDRKNYSEYQIRCOBNELEADTKOLFOGSDVROENYDKVKSARDALQEQVIELRRKHEILEASHMIQTKERS
 350 400
 A ELSKEWVTLQETVTLQKDKKEYLNQNMELSVRCACHEEDRLERLQALQLEESKAREMEYKYVASRDHYKTEYENKLDHLEQIRLKKTNQOELDDQLRNASR
 C ELSKEWVTLQETVTLQKDKKEYLNQNMELSVRCACHEEDRLERLQALQLEESKAREMEYKYVASRDHYKTEYENKLDHLEQIRLKKTNQOELDDQLRNASR
 450 500
 A EMYERENRNLRARDNAVAEKERAVAEKQDALEKHEQLDRYRELQOLSTESKVEEFLHQSKKSPESERVQOLLOETARNLTQOLECEKYQKLEVLTK
 C EMYERENRNLRARDNAVAEKERAVAEKQDALEKHEQLDRYRELQOLSTESKVEEFLHQSKKSPESERVQOLLOETARNLTQOLECEKYQKLEVLTK
 D EMYERENRNLRARDNAVAEKERAVAEKQDALEKHEQLDRYRELQOLSTESKVEEFLHQSKKSPESERVQOLLOETARNLTQOLECEKYQKLEVLTK
 550 600
 A EFYSLOASSEKRITELQANSEHQARLDIYEKLEKELDELIMQTAETIENEDEARVLEFSYGXGANVPTAKRRLKQSVHLARRVLOLEKQNSLILKDLHH
 C EFYSLOASSEKRITELQANSEHQARLDIYEKLEKELDELIMQTAETIENEDEARVLEFSYGXGANVPTAKRRLKQSVHLARRVLOLEKQNSLILKDLHH
 D EFYSLOASSEKRITELQANSDHARLDIYEKLEKELDELIMQTAETIENEDEARVLEFSYGXGANVPTAKRRLKQSVHLARRVLOLEKQNSLILKDLHH
 650 700
 A RKDQVTLQSQEL--DRANSLANQIQOOPYLLIESVRQDSKESLLESTIAQHEKDVSNLNKESALLQTKNQMALDLEOLLNHRRELAAMKQILLVMMHSK
 C QKNPSKTAFTRLITERANSLNQIQOOPYLLIESVRQDSKESLLESTIAQHEKDVSNLNKESALLQTKNQMALDLEOLLNHRRELAAMKQILLVMMHSK
 D QKNQVTLQSQEL--DRAN
 759
 A HSENSLLTKTEPKHVITENQKSLIENVHEHEENITFKPDTFTKKEAPEWSKQKQKMT
 C HSENSLLTKTEPKHVITENQKSLIENVHEHEENITFKPDTFTKKEAPEWSKQKQKMT
 D HSENSLLTKTEPKHVITENQKSLIENVHEHEENITFKPDTFTKKEAPEWSKQKQKMT

FIG. 1

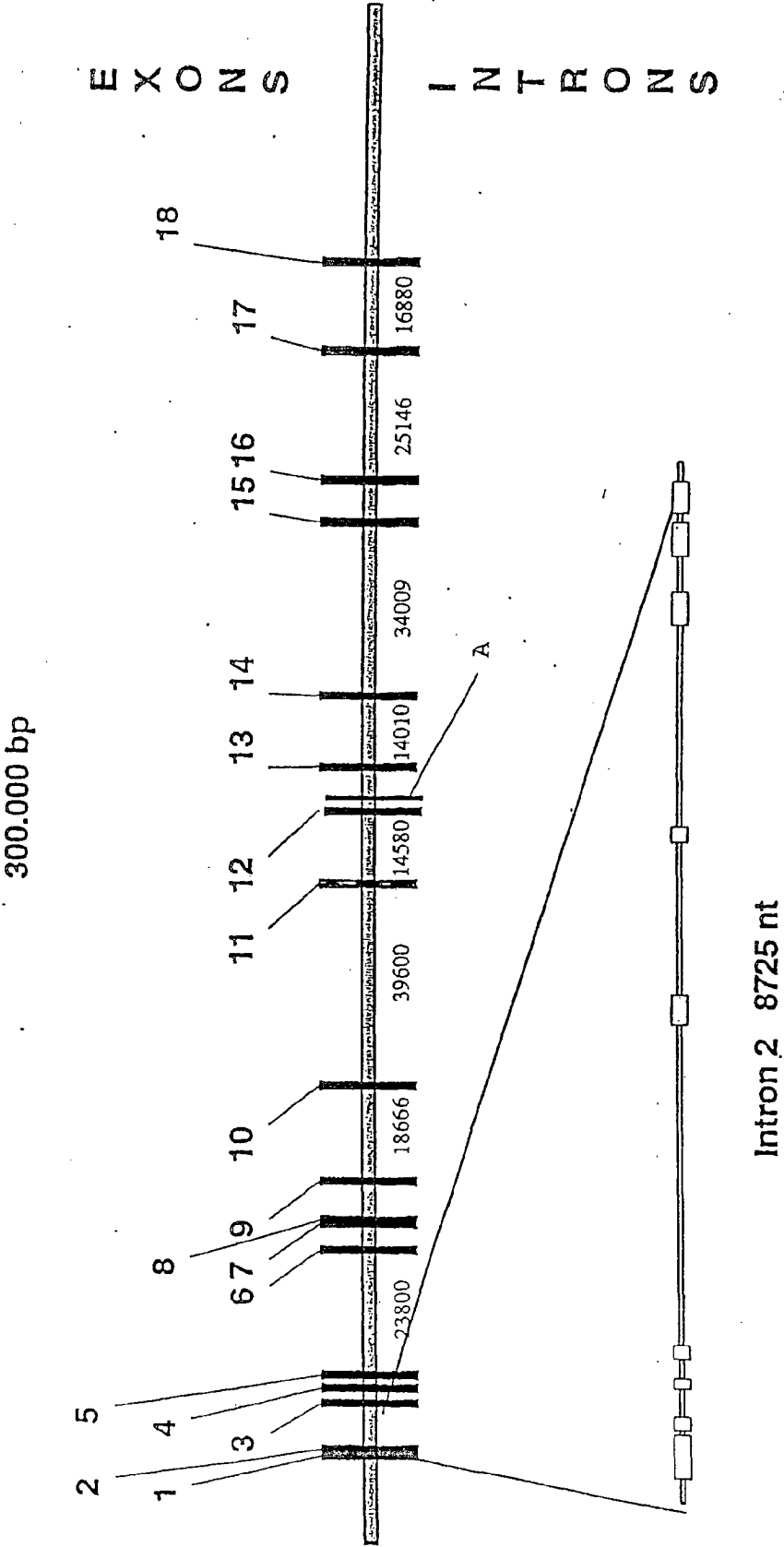


FIG. 2

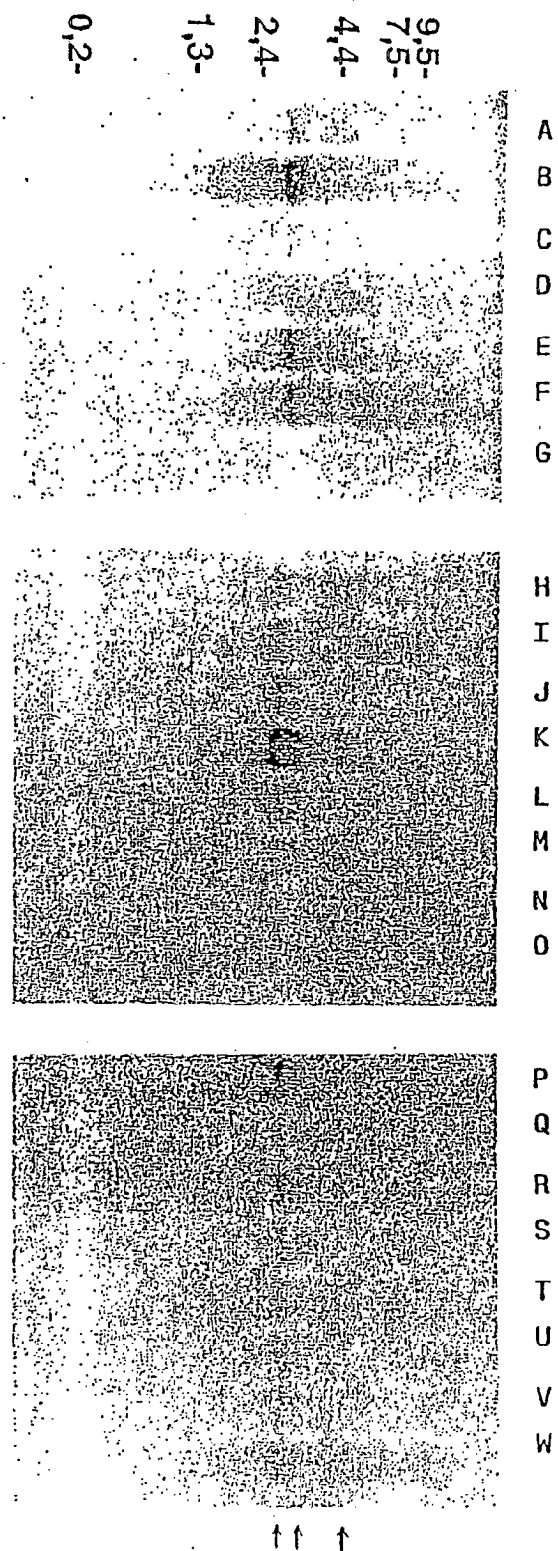


FIG. 3

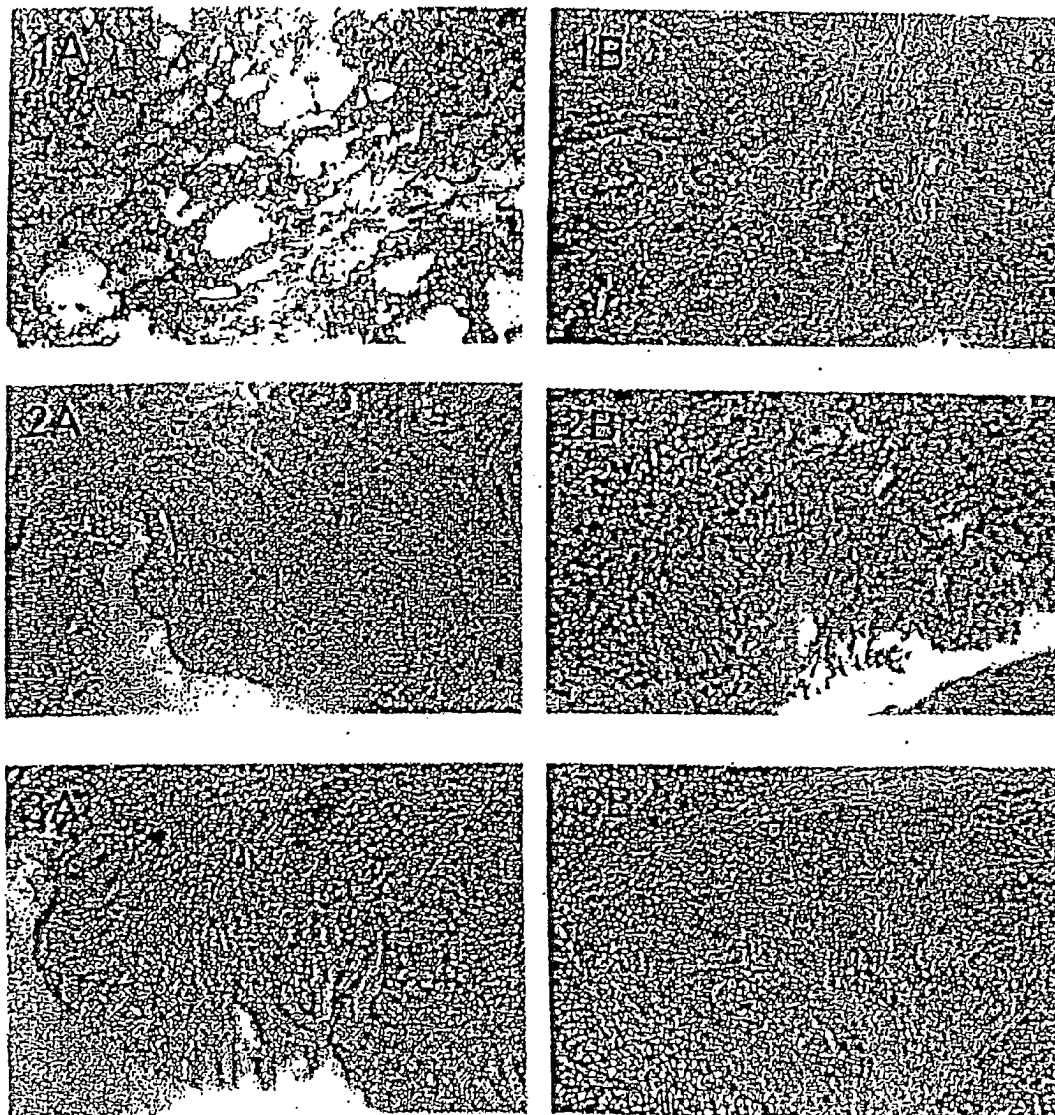


FIG. 4

FIG. 5A

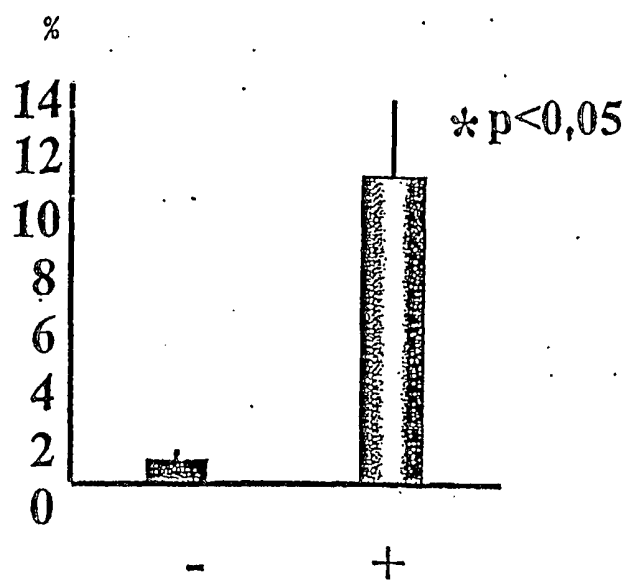


FIG. 5B

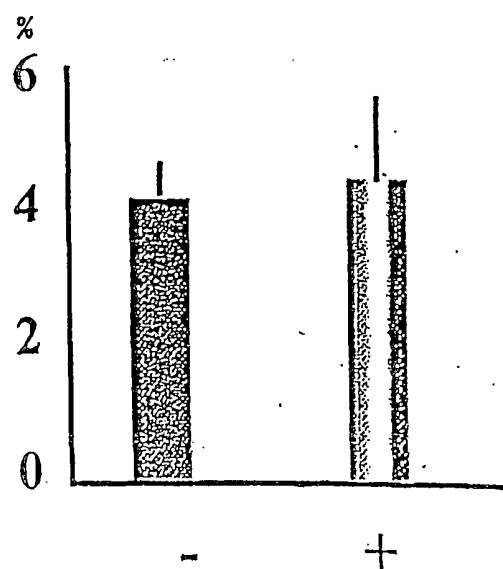


FIG. 5C

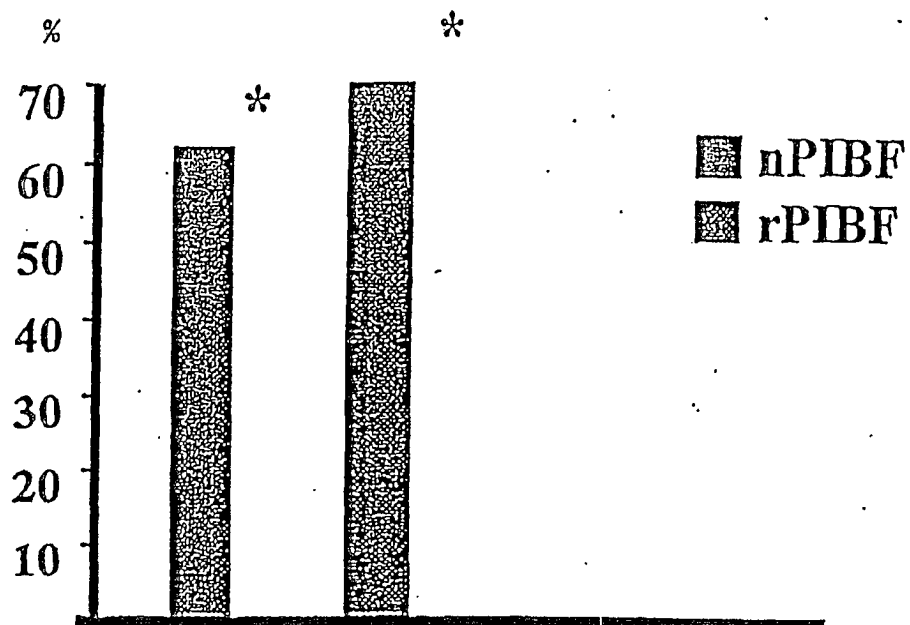


FIG. 5D

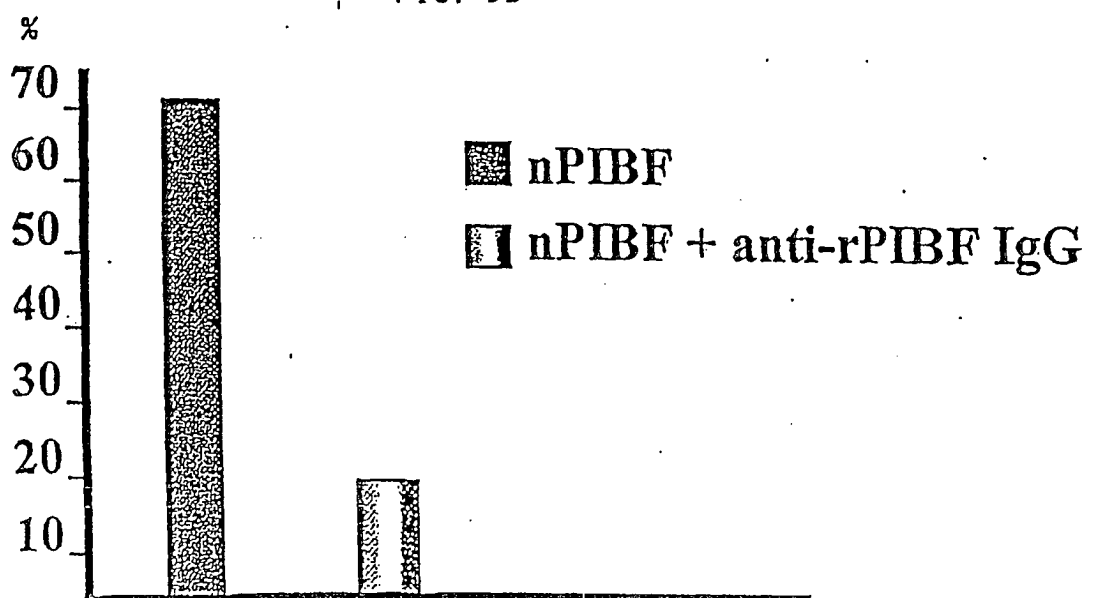


FIG. 6A

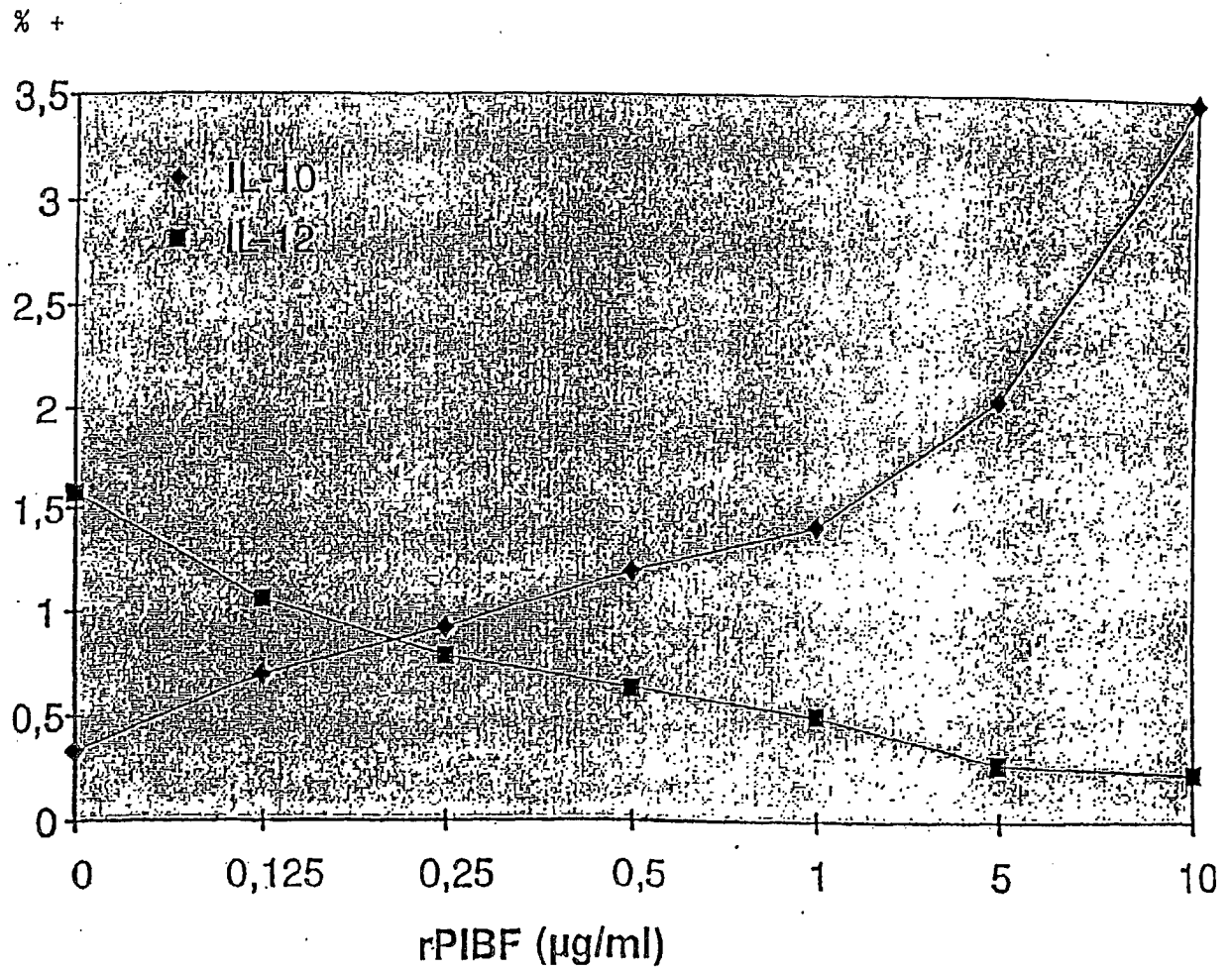


FIG. 6B

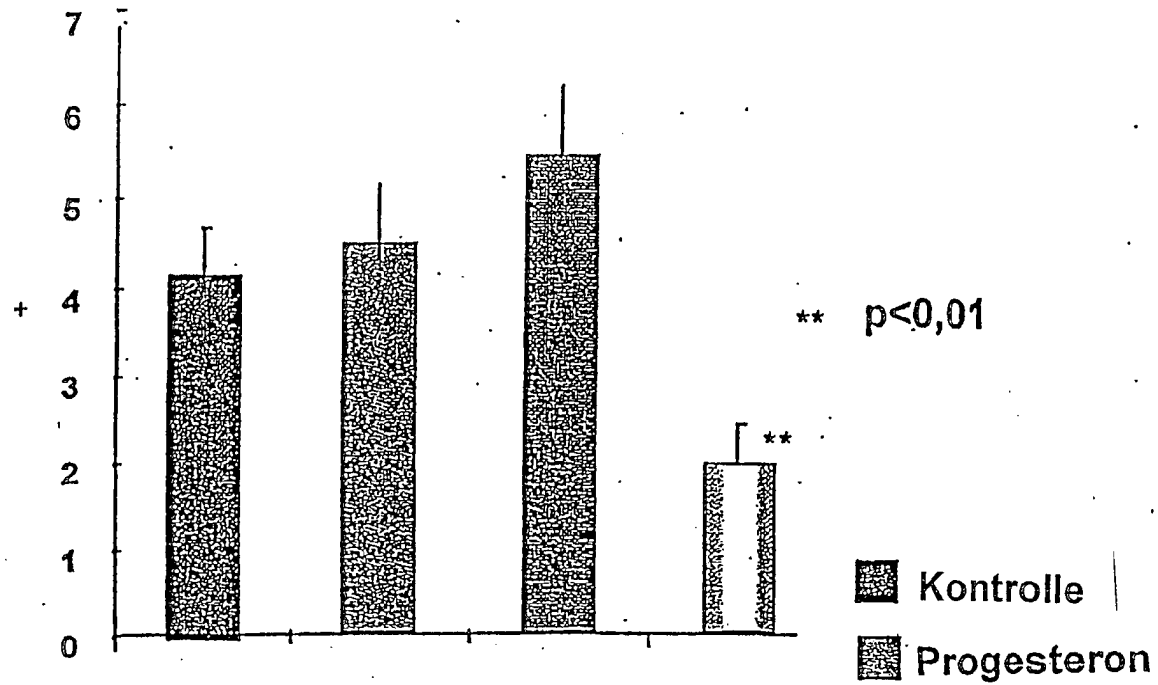
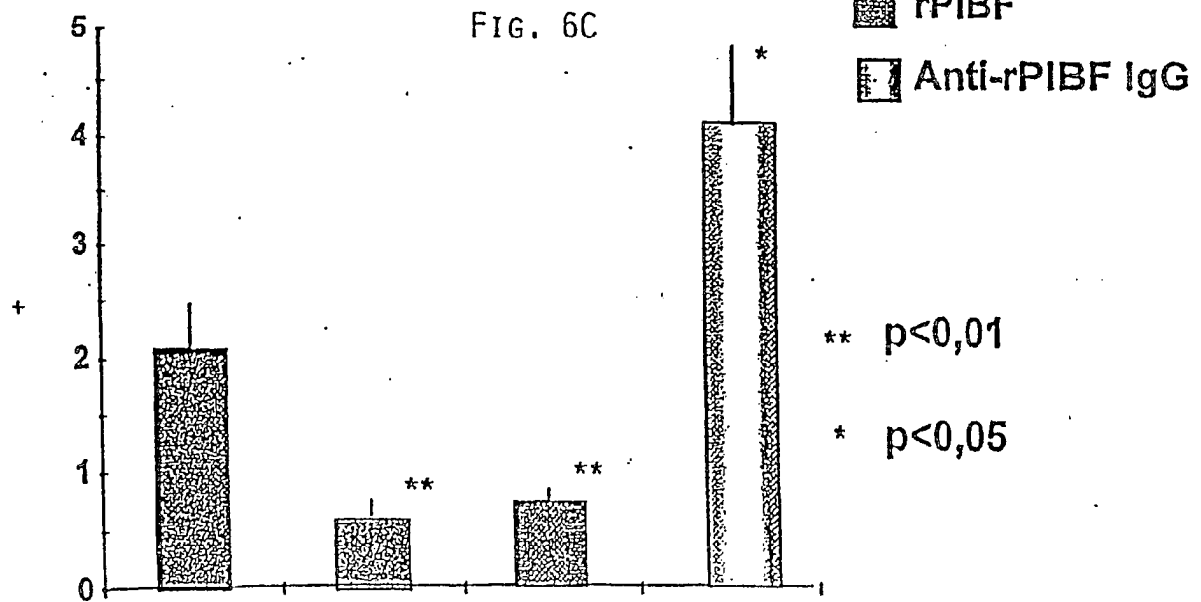
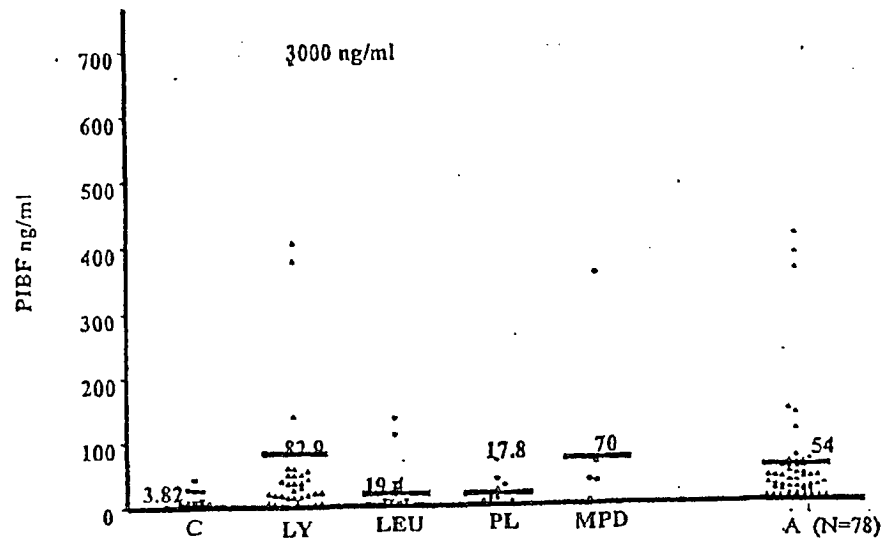


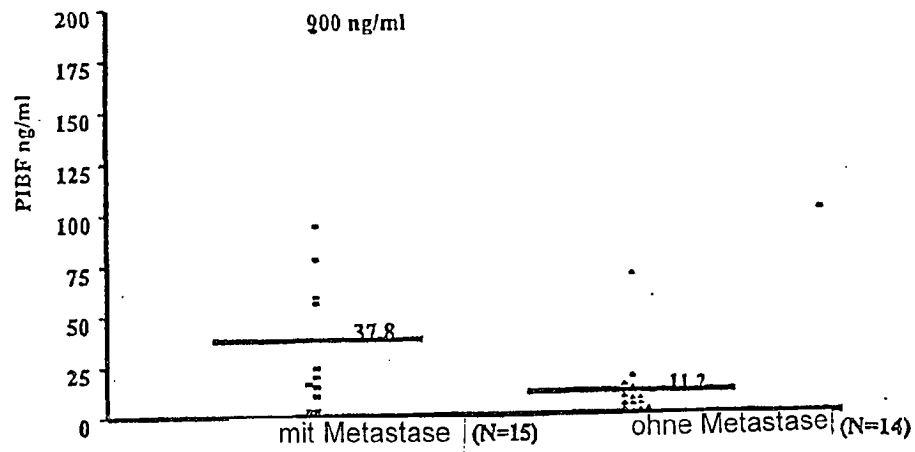
FIG. 6C



A



B



C

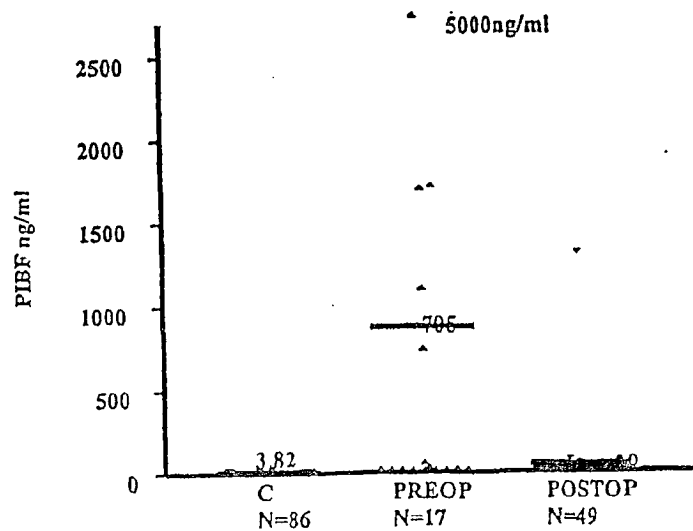


FIG. 7

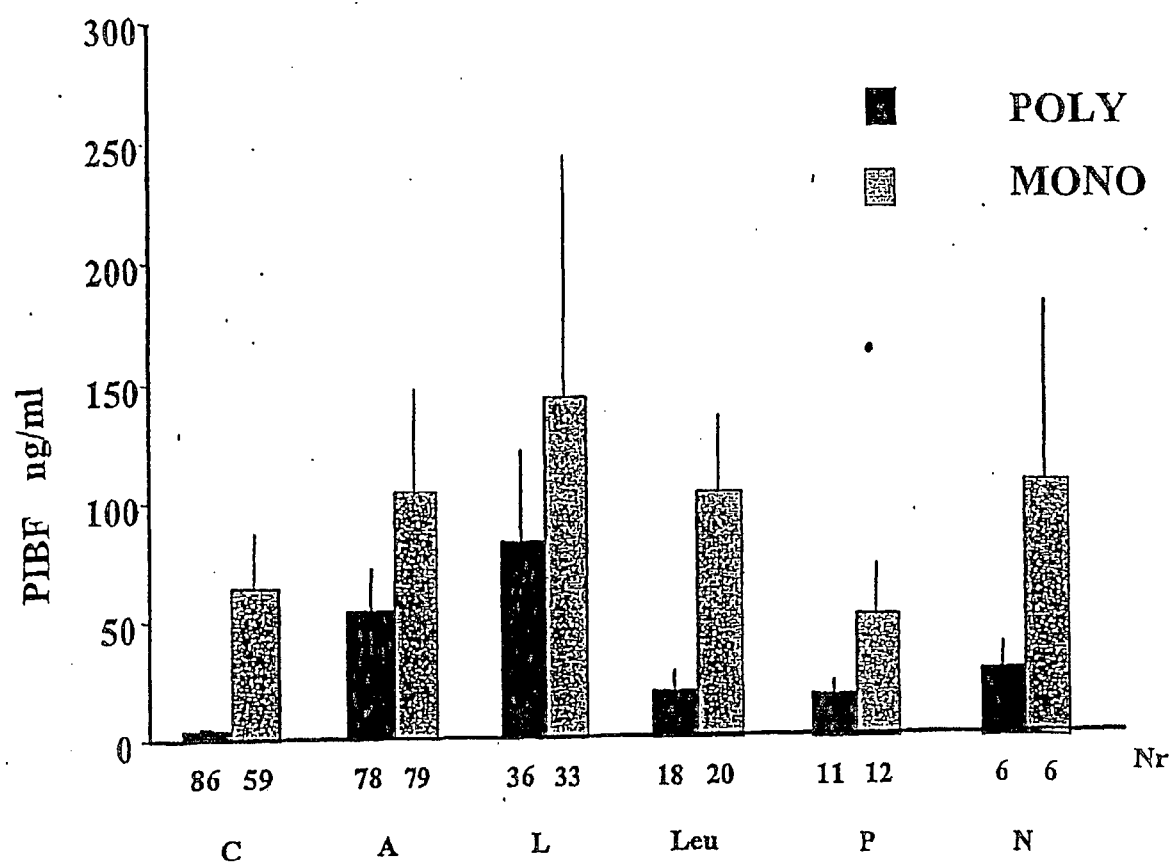


FIG. 8

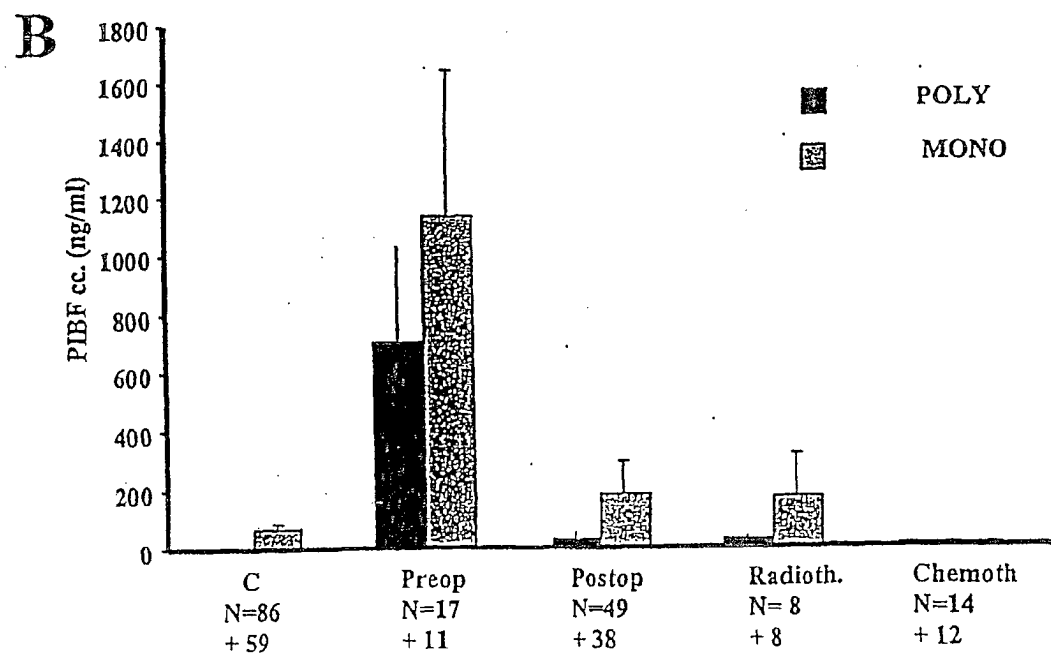
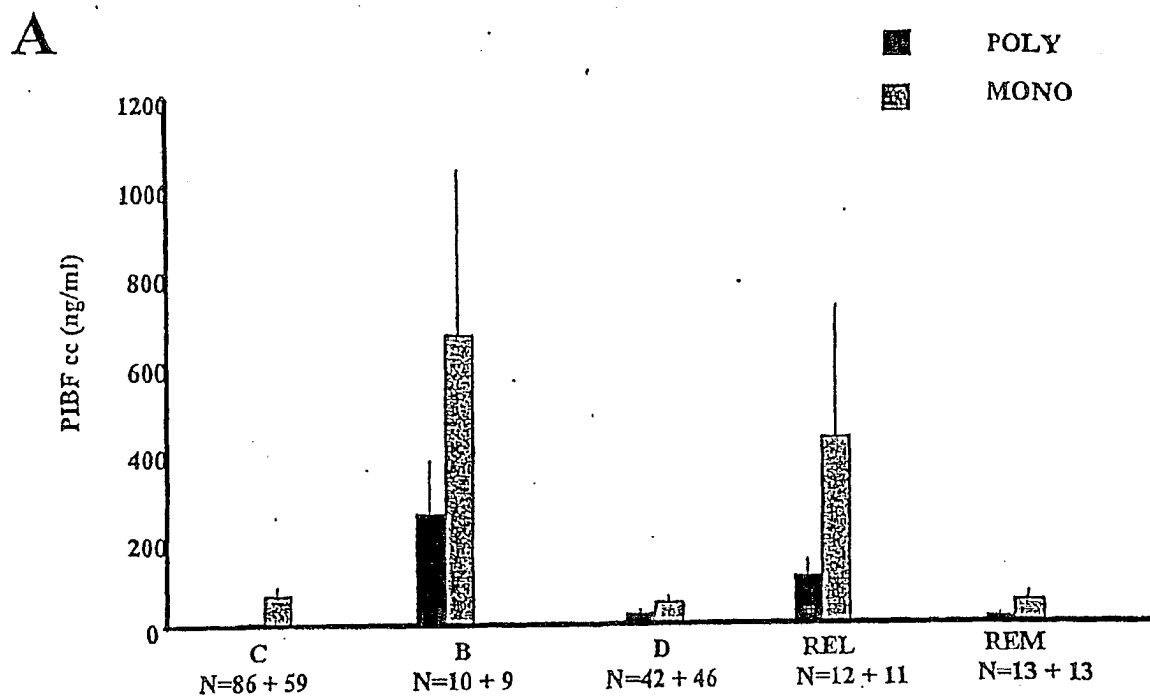


FIG. 9

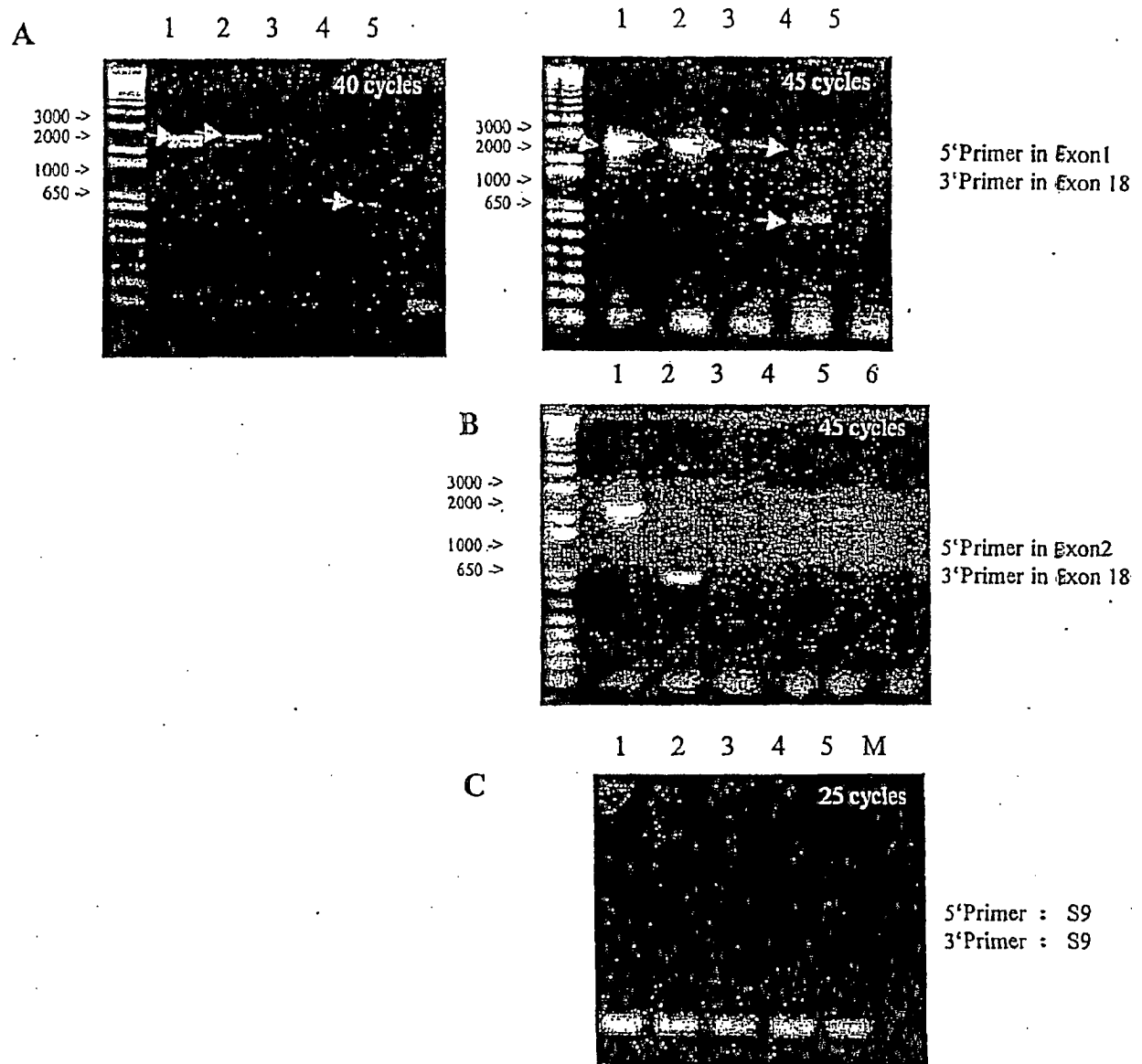


FIG. 10

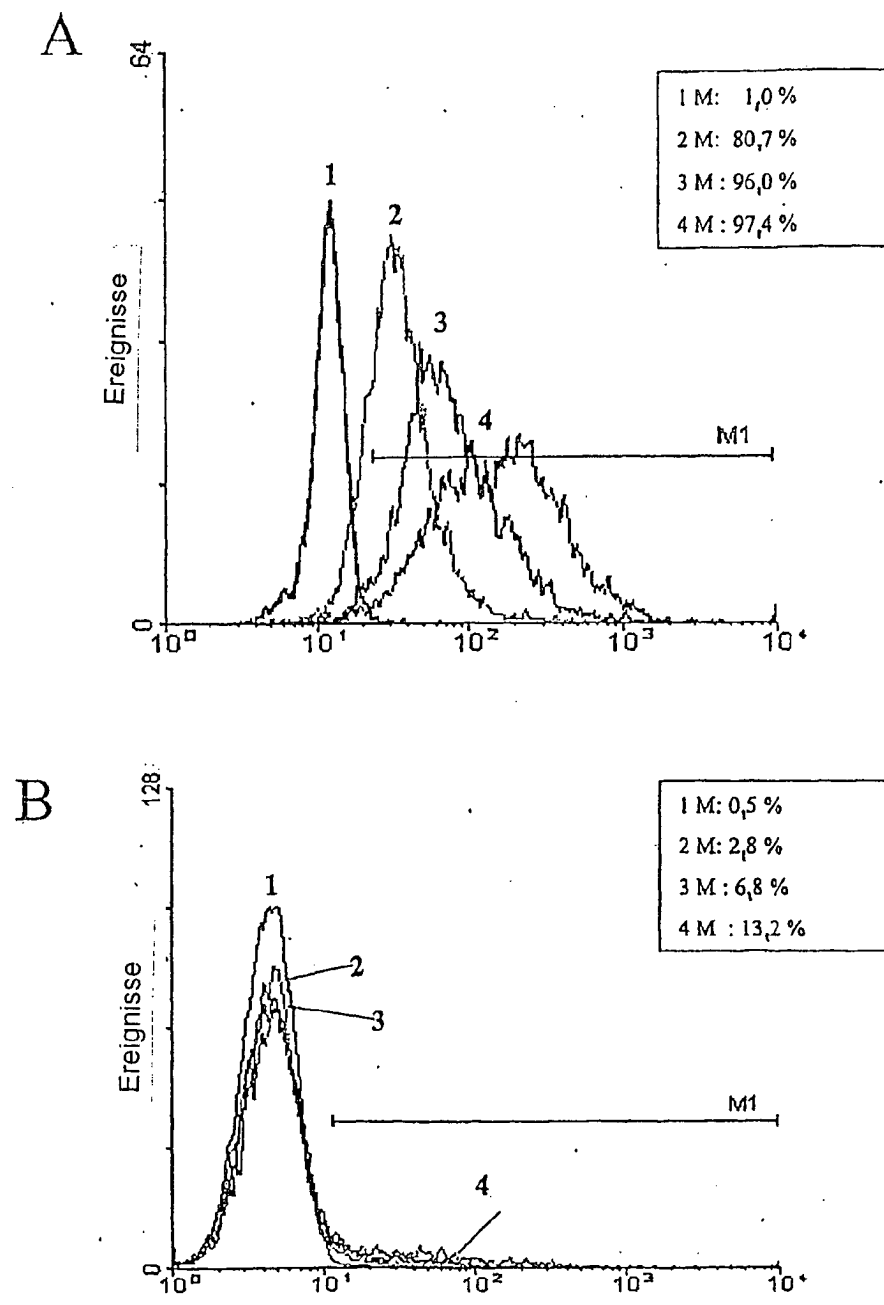


FIG. 11

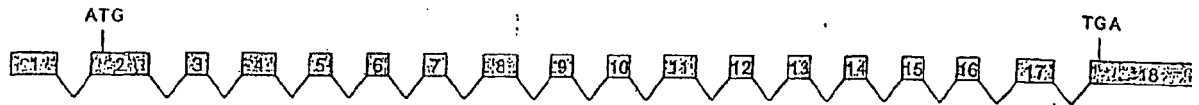


FIG. 12A



FIG. 12B



FIG. 12C



FIG. 12D



FIG. 12E



FIG. 12F

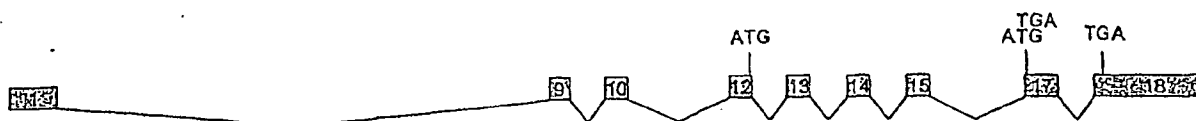


FIG. 12G

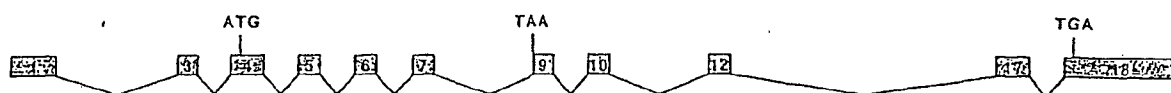


FIG. 12H

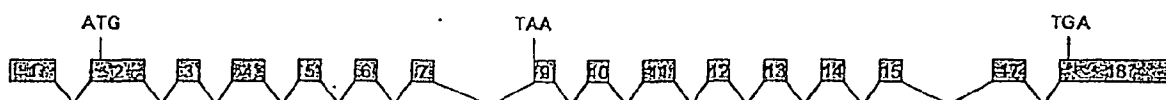


FIG. 12I

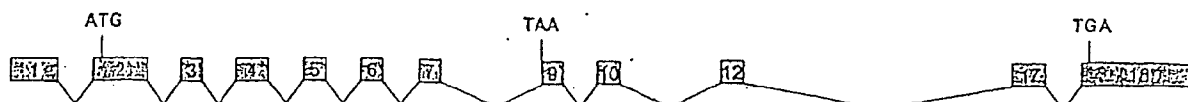


FIG. 12J



FIG. 12K

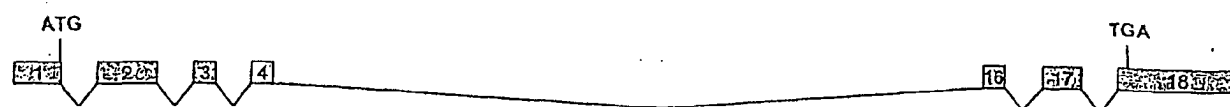


FIG. 12L

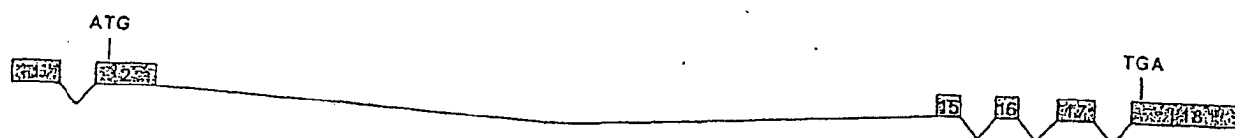


FIG. 12M

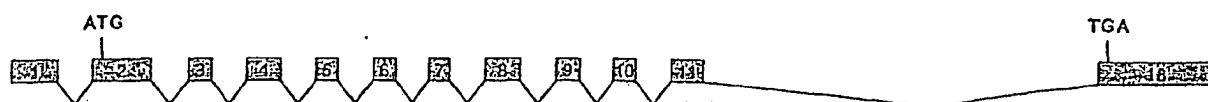


FIG. 12N

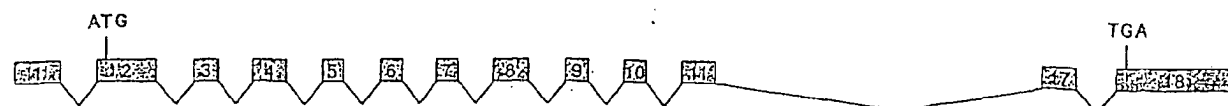


FIG. 12O

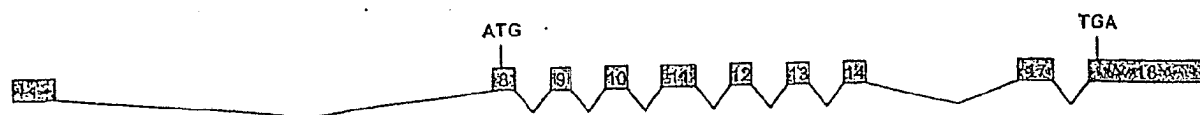


FIG. 12P

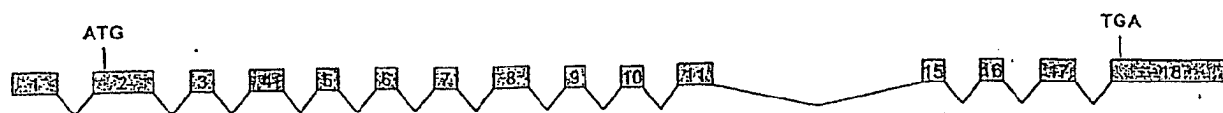


FIG. 12Q