(19) **Bundesrepublik Deutschland**
Deutsches Patent- und Markenamt

(10) **DE 696 35 801 T2** 2006.11.02

(12) # Übersetzung der europäischen Patentschrift

(97) **EP 0 812 356 B1**
(21) Deutsches Aktenzeichen: **696 35 801.8**
(86) PCT-Aktenzeichen: **PCT/US96/02424**
(96) Europäisches Aktenzeichen: **96 908 504.2**
(87) PCT-Veröffentlichungs-Nr.: **WO 1996/026272**
(86) PCT-Anmeldetag: **23.02.1996**
(87) Veröffentlichungstag der PCT-Anmeldung: **29.08.1996**
(97) Erstveröffentlichung durch das EPA: **17.12.1997**
(97) Veröffentlichungstag der Patenterteilung beim EPA: **08.02.2006**
(47) Veröffentlichungstag im Patentblatt: **02.11.2006**

(51) Int Cl.[8]: ***C12N 15/12*** (2006.01)
C12N 15/64 (2006.01)
C12Q 1/68 (2006.01)
C07K 14/435 (2006.01)

(30) Unionspriorität:

394152	**24.02.1995**	**US**
466381	**06.06.1995**	**US**
470735	**06.06.1995**	**US**

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

(73) Patentinhaber:
Sloan-Kettering Institute for Cancer Research, New York, N.Y., US

(72) Erfinder:
ISRAELI, S., Ron, Staten Island, NY 10305, US;
HESTON, D., Warren, New York, NY 10028, US;
FAIR, R., William, New York, NY 10021, US

(74) Vertreter:
MÜLLER FOTTNER STEINECKE Rechtsanwälte Patentanwälte, 80335 München

(54) Bezeichnung: **PROSTATASPEZIFISCHES MEMBRANES ANTIGEN UND SEINE ANWENDUNGEN**

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 hierin offenbarte Erfindung wurde zum Teil mit staatlicher Unterstützung angefertigt unter der NIH-Stipendien-Nr. DK47650 und CA58192, CA-39203, CA-29502, CA-08748-29 des US-Gesundheitsministeriums. Dementsprechend hat die US-Regierung bestimmte Rechte an dieser Erfindung.

HINTERGRUND DER ERFINDUNG

[0002] Im Verlauf dieser Anmeldung wird sich auf verschiedene Referenzen in Klammern bezogen.

[0003] Vollständige bibliographische Zitierung dieser Referenzen können am Ende jeder Reihe an Beispielen gefunden werden im Abschnitt der experimentellen Ausführungen.

[0004] Prostatakrebs zählt zu den bedeutendsten medizinischen Problemen in den Vereinigten Staaten, da die Krankheit nunmehr der geläufigste bösartige Tumor ist, der in amerikanischen Männern diagnostiziert wird. 1992 waren es über 132,000 neue Fälle von Prostatakrebs die detektiert wurden mit mehr als 36,000 Todesfällen, die der Krankheit zugeschrieben werden konnten, was eine Zunahme von 17,3% im Laufe von vier Jahren repräsentiert (2). Überlebensraten von fünf Jahren für Patienten mit Prostatakrebs erstrecken sich von 88%, für solche mit lokalisierter Krankheit, bis zu 29% für solche mit metastatischer Krankheit. Die rapide Zunahme in der Anzahl der Fälle scheint zum Teil aus einer Zunahme an Krankheitsbewusstsein zu stammen, sowie auch die weit verbreitete Verwendung klinischer Marker, wie die sekretierten Proteine, Prostataspezifisches Antigen (PSA) und Prostataspezifische saure Phosphatase (PAP) (37).

[0005] Die Prostatadrüse ist eine Stelle von bedeutender Pathologie, beeinflusst von Gegebenheiten, wie gutartiges Wachstum (BPH), Neoplasie (Prostatakarzinom) und Infektion (Prostatitis). Prostatakrebs stellt die zweitführende Todesursache von Krebs im Mann dar (1). Dennoch ist das Prostatakarzinom der maßgebliche Ort für Krebsentwicklung in Männern. Der Unterschied zwischen diesen beiden Tatsachen betrifft Prostatakrebs, der mit zunehmender Häufigkeit vorkommt, wenn Männer altern, speziell im Alter nach 60, zu einer Zeit, wenn der Tod aufgrund anderer Faktoren oft einschreitet. Ebenfalls ist das Spektrum der biologischen Aggressivität des Prostatakarzinoms beträchtlich, so dass in manchen Männern der Tumor im Anschluss an die Detektion ein latent histologischer Tumor bleibt und nicht klinisch bedeutsam wird, wobei er in Anderen schnell fortschreitet, metastasiert, und den Mann in einem vergleichsweise kurzen Zeitraum von zwei bis fünf Jahren tötet (1, 3).

[0006] In Prostatakarzinomzellen kommen zwei spezifische Proteine vor, die in sehr hohen Konzentrationen hergestellt werden, die Prostataspezifische saure Phosphatase (PAP) und das Prostataspezifisches Antigen (PSA) (4, 5, 6). Diese Proteine sind gekennzeichnet worden und sind verwendet worden, um die Reaktion auf Therapie zu beobachten. Mit der Entstehung von Krebs wird die normale Architektur der Drüse verändert, einschließlich Verlust der normalen Duktusstruktur zum Entfernen von Absonderungen und folglich die Absonderungen ins Serum gelangen. Tatsächlich wird die Messung von Serum-PSA vorgeschlagen, als ein mögliches Screening-Verfahren für Prostatakrebs. Tatsächlich nimmt die relative Menge an PSA und/oder PAP im Karzinom ab im Vergleich zu normalem oder gutartigem Gewebe.

[0007] PAP war einer der ersten Serummarker zum Detektieren von Metastasierung (4). PAP hydrolisiert Tyrosinphosphat und hat eine ausgedehnte Substratspezifität. Tyrosinphosphorylierung ist bei onkogener Transformation oft erhöht. Es wurde angenommen, dass während der neoplastischen Transformation weniger Phosphataseaktivität vorliegt, die zur Verfügung steht um Proteine zu inaktivieren, die durch Phosphorylierung der Tyrosinreste aktiviert sind. In manchen Fällen hat das Einfügen von Phosphatasen, die Tyrosinphosphataseaktivität besitzen, den malignen Phenotyp rückgängig gemacht.

[0008] PSA ist eine Protease und es ist nicht leicht zu verstehen, wie der Verlust ihrer Aktivität mit Krebsentstehung korreliert (5, 6). Die proteolytische Aktivität von PSA wird durch Zink inhibiert. Zinkkonzentrationen sind in normaler Prostata hoch und im Prostatakarzinom reduziert. Möglicherweise ermöglicht der Verlust von Zink eine erhöhte proteolytische Aktivität von PSA. Da Proteasen in Metastasen involviert sind und manche Proteasen mitotische Aktivität stimulieren, könnte bezüglich der möglichen erhöhten Aktivität von PSA angenommen werden, eine Rolle in den Tumormetastasen und der Verbreitung zu spielen (7).

[0009] Sowohl PSA als auch PAP kommen in Prostataausscheidungen vor. Beide scheinen für ihre Herstellung von der Anwesenheit von Androgenen abhängig zu sein, und sind im Wesentlichen reduziert im Anschluss an Androgenentzug.

[0010] Das Prostataspezifische Membranantigen (PSM), das in der Prostatamembran lokalisiert zu sein scheint, ist identifiziert worden. Dieses Antigen wurde identifiziert als Ergebnis des Herstellens monoklonaler Antikörper gegen eine Prostatakrebszelle, LNCaP (8).

[0011] Dr. Horoszewicz etablierte eine Zelllinie, bezeichnet mit LNCaP, aus dem Lymphknoten eines Hormon-unempfindlichen, stark vorbehandelten Patienten (9). Für diese Linie wurde herausgefunden, dass sie einen aneuploiden humanen männlichen Karyotyp aufweist. Sie erhielt die Funktionalität der Prostatadifferenzierung aufrecht insofern, als dass sie sowohl PSA als auch PAP produzierte. Sie besaß einen Androgenrezeptor mit hoher Affinität und Spezifität. Es wurden Mäuse mit LNCaP-Zellen immunisiert, und Hybridome wurden aus sensibilisierten Tieren gewonnen. Ein monoklonaler Antikörper wurde gewonnen und wurde mit 7E11-C5 bezeichnet (8). Die Antikörperfärbung war übereinstimmend mit einer Membranlokalisierung, und isolierte Fraktionen von LNCaP-Zellmembranen zeigten eine stark positive Reaktion im Immunoblotting und bei ELISA-Techniken. Weder inhibierte noch verstärkte dieser Antikörper das Wachstum von LNCaP-Zellen in vitro oder in vivo. Der Antikörper gegen dieses Antigen war bemerkenswert spezifisch für Prostata-Epithelzellen, da keine Reaktivität in irgendeinem anderen Teil beobachtete wurde. Immunhistochemische Anfärbung krebsartiger Epithelzellen war intensiver als die von normalen oder gutartigen Epithelzellen.

[0012] Dr. Horoszewicz beschrieb ebenfalls die Detektion von immunreaktivem Material unter Verwendung von 7E11-C5 in Serum von Prostatakrebspatienten (8). Die Immunreaktivität war in annähernd 60% der Patienten mit Stadium D-2 der Krankheit detektierbar und in einem leicht geringeren prozentualen Anteil in Patienten in frühem Stadium der Krankheit, allerdings sind die Zahlen in Patienten in der letzteren Gruppe gering. Patienten mit gutartiger Prostatahyperplasie (BPH) waren negativ. Patienten ohne offensichtliche Krankheit waren negativ, jedoch zeigten 50–60% der Patienten in Remission noch immer mit aktiver beständiger Krankheit oder mit Fortschreiten positive Serumreaktivität. Patienten mit Nicht-Prostatatumoren zeigten keine Immunreaktivität mit 7E11-C5.

[0013] Der monoklonale Antikörper 7E11-C5 befindet sich zurzeit in klinischen Studien. Die Aldehydgruppen des Antikörpers wurden oxidiert und der Linker-Chelator Glykol-Tyrosyl-(n, ε-Diethylentriaminpentaessigsäure)-Lysin (GYK-DTPA) wurde an die reaktiven Aldehyde der schweren Kette gekoppelt (10). Der resultierende Antikörper wurde mit CYT-356 bezeichnet. Immunhistochemische Färbemuster waren ähnlich mit Ausnahme, dass der modifizierte Antikörper CYT-356 den Skelettmuskel anfärbte. Der Vergleich von CYT-356 mit dem monoklonalen Antikörper 7E11-C5 legte nahe, dass beide Bindung mit Typ 2 Muskelfasern eingingen. Als Grund für die den Widerspruch mit der früheren Studie, die Skelettmuskel als negativ beschrieben hat, wurde vorgeschlagen, dass sie aufgrund von Unterschieden in den Gewebefixierungstechniken sind. Noch immer wurde die intensivste und deutlichste Reaktion mit Prostata-Epithelzellen, besonders krebsartigen Zellen, beobachtet. Reaktivität mit Maus-Skelettmuskel wurde mit Immunhistochemie, aber nicht in Imaging-Studien, detektiert. Der $Indium^{111}$-markierte Antikörper lokalisierte an LNCaP-Tumoren, die in nackten Mäusen gewachsen waren, mit einer Aufnahme von ungefähr 30% der an vier Tagen injizierten Dosis pro Gramm Tumor. In-vivo wurde keine selektive Retention des Antikörpers in Antigen-negativen Tumoren wie PC-3 und DU-145 oder im Skelettmuskel beobachtet. Über das PSM-Antigen war sehr wenig bekannt. Ein Versuch der Aufreinigung und Kennzeichnung ist auf Meetings von Dr. George Wright und Kollegen beschrieben worden (11, 12).

KURZE BESCHREIBUNG DER FIGUREN

[0014] Fig. 1A bis Fig. 1D: Die oberen zwei Photos zeigen für PSM-Antigen positiv gefärbte LNCaP-Zytospins. Unten links in DU-145 und unten rechts ist PC-3-Zytospin, beide negative bezüglich PSM-Antigenexpression.

[0015] Fig. 2: Vergleich zwischen PSM- und PSM'-cDNA. Dargestellt ist die Sequenz des 5'-Endes der PSM-cDNA (5). Der unterstrichene Bereich bezeichnet Nukleotide, die in der PSM-cDNA-Sequenz vorhanden sind, aber in der PSM'-cDNA fehlen. Der umschlossene Bereich stellt die mögliche Transmembrandomäne des PSM-Antigens dar. * Sternchen bezeichnet die mögliche Translationsinitiationsstelle für PSM'.

[0016] Fig. 3: Graphische Darstellung der PSM- und PSM'-cDNA-Sequenzen, sowie der antisense-PSM-RNA-Sonde (b). PSM-cDNA-Sequenz mit vollständiger kodierender Region (5). (a) PSM'-cDNA-Sequenz aus dieser Untersuchung. (c) Gekreuzt-schraffierte und offene Kästchen bezeichnen die Identität der Sequenzen bei PSM und PSM'. Die schraffierte Box zeigt die Sequenz an, die bei PSM' fehlt. Bereiche der cDNA-Sequenz, die komplementär zur antisense-Sonde sind, sind durch gestrichelte Linien zwischen den Sequenzen angegeben.

[0017] Fig. 4: RNase-Schutzassay mit PSM-spezifischer Sonde in primären Prostatageweben. Gesamtzelluläre RNA wurde aus humanen Prostataproben isoliert: Normale Prostata, BPH, und CaP. Die gespleißten Varianten, PSM und PSM', sind mit Pfeilen rechts angezeigt. Die linke Spur ist eine DNA-Leiter. Proben von verschiedenen Patienten sind klassifiziert als:
Spuren 3–6, CaP, Prostatakarzinom; BPH, gutartige Prostatahypertrophie, Spuren 7–9; normal, normales Prostatagewebe, Spuren 10–12. Autoradiographie wurde für eine längere Zeit exponiert um Spuren 5 und 9 zu lesen.

[0018] Fig. 5: Tumorindex, eine Quantifizierung der Expression von PSM und PSM'. Expression von PSM und PSM' wurde über Densitometrie quantifiziert, und als ein Verhältnis von PSM/PSM' auf der Y-Achse dargestellt. Jeweils drei Proben wurden für primäre CaP, BPH und normale Prostatagewebe quantifiziert. Zwei Proben wurden für LNCaP quantifiziert. Normal, normales Prostatagewebe.

[0019] Fig. 6: Kennzeichnung von membrangebundenem PSM und PSM' im Cytosol.

[0020] Fig. 7A–Fig. 7D: Sequenz des genomischen Bereichs stromaufwärts der 5'-Transkriptionsstartstelle von PSM.

[0021] Fig. 8: Genomische Organisation des PSM-Gens.

ZUSAMMENFASSUNG DER ERFINDUNG

[0022] Die Erfindung stellt bereit ein isoliertes Säugetier-Nukleinsäuremolekül, das ein alternativ gespleißtes Prostataspezifisches Membran (PSM')-antigen kodiert.

[0023] Die Erfindung stellt bereit ein Verfahren zum Detektieren hämatogener mikrometastatischer Tumorzellen eines Subjekts, und Bestimmen des Fortschreitens von Prostatakrebs in einem Subjekt.

Ausführliche Beschreibung der Erfindung

[0024] Im Laufe der Anmeldung sind Bezugnahmen auf spezifische Nukleotide, Bezugnahmen auf Nukleotide, die auf dem kodierenden Strang der Nukleinsäure vorhanden sind. Die folgenden üblichen Abkürzungen werden im Verlaufe der Beschreibung verwendet, um spezifische Nukleotide anzuzeigen:

C = Cytosin
A = Adenosin
T = Thymidin
G = Guanosin

[0025] Ein "Gen" bezeichnet ein Nukleinsäuremolekül, dessen Sequenz all die Information enthält, die nötig ist für die normale regulierte Herstellung eines speziellen Proteins, einschließlich die strukturelle kodierende Sequenz, Promotoren und Verstärker.

[0026] Die Erfindung stellt bereit eine isolierte Säugetier-Nukleinsäure, die ein alternativ gespleißtes Prostataspezifisches Membran (PSM')-antigen kodiert.

[0027] Die vorliegende Erfindung stellt bereit ein isoliertes Nukleinsäuremolekül wie in Anspruch 1 beansprucht. Das isolierte Nukleinsäuremolekül kann ein DNA-Molekül sein, alternativ kann es ein RNA- oder ein cDNA-Molekül sein.

[0028] In der bevorzugten Ausführungsform dieser Erfindung ist die isolierte Nukleinsequenz cDNA aus Mensch, wie in Fig. 7A–Fig. 7D dargestellt. Diese humane Sequenz wurde bei GenBank eingereicht (Los Alamos National Laboratory, Los Alamos, New Mexico) mit der Zugangsnummer M99487 und der Beschreibung als PSM, Homo sapiens, 2653 Basenpaare.

[0029] Hoch stringente Hybridisierungsbedingungen werden gewählt, bei ungefähr 5°C unterhalb des thermischen Schmelzpunkts (Tm) für die jeweilige Sequenz, bei einer definierten Ionenstärke und definiertem pH. Der Tm ist diejenige Temperatur (bei definierter Ionenstärke und definiertem pH), bei der 50% der Zielsequenz an eine perfekt passende Probe hybridisieren. Typischerweise sind stringente Bedingungen diejenigen, bei denen die Salzkonzentration mindestens ungefähr 0.02 molar bei pH 7 beträgt, und die Temperatur mindestens

ungefähr 60°C beträgt. Da weitere Faktoren signifikant die Stringenz der Hybridisierung beeinflussen können einschließlich, unter anderem, Basenzusammensetzung und Größe der komplementären Stränge, die Anwesenheit von organischen Lösungsmitteln, d. h. Salz- oder Formamidkonzentration, und das Ausmaß von Basenfehlpaarung, ist die Kombination der Parameter wichtiger als das absolute Maß jedes einzelnen. Zum Beispiel kann hohe Stringenz erreicht werden durch beispielsweise Über-Nacht-Hybridisierung bei ungefähr 68°C in einer 6 × SSC-Lösung, Waschen bei Raumtemperatur mit 6 × SSC-Lösung, gefolgt von Waschen bei ungefähr 68°C in einer 6 × SSC in einer 0.6 × SSX-Lösung.

[0030] Hybridisierung mit mäßiger Stringenz kann erreicht werden beispielsweise über: 1) Filter-Prähybridisieren und Hybridisieren mit einer Lösung aus 3 × Natriumchlorid, Natriumcitrat (SSC), 50% Formamid, 0.1M Trispuffer bei Ph 7.5, 5 × Denhardt's Lösung; 2.) Prähybridisierung für 4 Stunden bei 37°C; 3) Hybridisierung für 15 Stunden bei 37°C mit einer Menge an markierter Sonde, die insgesamt 3,000,000 cpm entspricht; 4) Waschen in 2 × SSC und 0.1% SDS-Lösung; 5) 4 × Waschen für jeweils 1 Minute bei Raumtemperatur bei 4 × bei 60°C für jeweils 30 Minuten; und 6) Trocknen und gegen Film exponieren.

[0031] Die hierin beschriebenen und beanspruchten DNA-Moleküle sind nützlich bezüglich der Information die sie liefern, betreffend die Aminosäuresequenz des Polypeptids, und als Produkte für die Synthese des Polypeptids im großen Maßstab durch eine Vielzahl von rekombinanten Techniken. Das Molekül ist nützlich zum Erzeugen neuer Klonierungs- und Expressionsvektoren, transfomierter und transfizierter prokaryotischer und eukaryotischer Wirtszellen, und neuer und nützlicher Verfahren für Wachstum solcher Wirtszellen in Kultur, die fähig zur Expression des Polypeptids und verwandter Produkte sind.

[0032] Darüber hinaus sind die isolierten Säugetier-Nukleinsäuremoleküle, die ein Säugetier-Prostataspezifisches Membranantigen sowie das alternativ gespleißte PSM' kodieren, nützlich für die Entwicklung von Sonden, um die Tumorgenese von Prostatakrebs zu untersuchen.

[0033] Die Erfindung stellt ebenfalls bereit ein isoliertes Nukleinsäuremoleküle von mindestens 15 Nukleotiden, das in der Lage ist, spezifisch gegen eine Sequenz eines Nukleinsäuremoleküls wie in Anspruch 5 definiert, zu hybridisieren.

[0034] Dieses hergestellte Nukleinsäuremolekül kann entweder DNA oder RNA sein. Wie hierin verwendet, bezeichnet der Ausdruck "spezifisch hybridisierend" die Fähigkeit eines Nukeinsäuremoleküls, eine Nukleinsäuresequenz, die komplementär zu seiner eigenen ist, zu erkennen, und über Wasserstoffbrückenbindung zwischen komplementären Basenpaaren doppelhelikale Abschnitte zu bilden.

[0035] Dieses Nukleinsäuremolekül von mindestens 15 Nukleotiden, das in der Lage ist, spezifisch gegen eine Sequenz eines Nukleinsäuremoleküls, welches das Prostataspezifische Membranantigen kodiert, zu hybridisieren, kann als eine Sonde verwendet werden. Nukleinsäuresonden-Technologie ist dem Fachmann gut bekannt, der leicht erkennt, dass solche Sonden stark in der Länge variieren können, und mit einer detektierbaren Markierung wie einem Radioisotop oder Fluoreszenzfarbstoff markiert werden können, um die Detektion der Sonde zu vereinfachen. DNA-Sondenmoleküle können hergestellt werden durch Insertion eines DNA-Moleküls, welches das PSM-Antigen kodiert, in geeignete Vektoren wie Plasmide oder Bakteriophagen, gefolgt von Transformieren in geeignete bakterielle Wirtszellen, Replikation in den transformierten bakteriellen Wirtszellen, und Ernten der DNA-Sonden unter Verwendung von im Stand der Technik gut bekannten Verfahren. Alternativ können Sonden chemisch über DNA-Synthesizer hergestellt werden.

[0036] RNA-Sonden können erzeugt werden durch Insertieren des PSM-Antigenmoleküls stromabwärts gelegen eines Bakteriophagen-Promoters wie T3, T7, oder SP6. Große Mengen an RNA-Sonde können hergestellt werden durch Inkubieren der markierten Nukleotide mit dem linearisierten PSM-Antigenfragment, sofern es einen stromaufwärts gelegenen Promoter enthält, in Anwesenheit der geeigneten RNA-Polymerase.

[0037] Die aktuelle Erfindung stellt ferner bereit ein Verfahren zum Detektieren der Expression von PSM', wie in Anspruch 8 beansprucht.

[0038] Gesamt-mRNA der Zelle kann über viele Prozeduren die einem Durchschnittsfachmann gut bekannt sind, isoliert werden. Die Hybridisierungsbedingungen des markierten Nukleinsäuremoleküls können durch routinemäßiges, im Stand der Technik gut bekanntes Experimentieren bestimmt werden. Das Vorhandensein von gegen die Sonde hybridisierter mRNA kann über Gelelektrophorese oder andere im Stand der Technik bekannte Verfahren bestimmt werden.

[0039] Die Markierung kann radioaktiv sein. Zum Beispiel können ein oder mehrere radioaktive Nukleotide in die Nukleinsäure, während sie hergestellt wird, eingebaut werden.

[0040] In einer Ausführungsform der Erfindung werden Nukleinsäuren über Präzipitation aus lysierten Zellen extrahiert, und die mRNA wird aus dem Extrakt isoliert unter Verwendung einer Oligo-dT-Säule, die die Poly-A-Schwänze der mRNA-Moleküle bindet (13). Die mRNA wird dann gegen eine radioaktiv markierte Sonde auf einer Nitrozellulosemembran exponiert, und die Sonde hybridisiert gegen-, und markiert dadurch die komplementären mRNA-Sequenzen. Die Bindung kann über Lumineszenz Autoradiographie oder Scintillationszählung detektiert werden. Dennoch sind dem Fachmann andere Verfahren zum Durchführen dieser Schritte gut bekannt, und die obige Diskussion stellt lediglich ein Beispiel dar.

[0041] Die in-situ-Hybridisierung unter Verwendung eines markierten Nukleinsäuremoleküls ist im Stand der Technik gut bekannt. Im Wesentlichen werden Gewebeschnitte mit dem markierten Nukleinsäuremolekül inkubiert, um die Hybridisierung zu ermöglichen. Das Molekül trägt einen Marker zur Detektion, weil es "markiert" ist, die Menge des Hybrids wird basierend auf der Detektion der Menge des Markers bestimmt, und damit die Expression des PSM-Antigens.

[0042] Die Erfindung stellt weiterhin bereit ein isoliertes Nukleinsäuremolekül nach Anspruch 2, operativ gebunden an einen Promoter für RNA-Transkription, wie in Anspruch 9 beansprucht.

[0043] Die Erfindung stellt weiterhin bereit einen Vektor, der ein isoliertes Nukleinsäuremolekül umfasst, wie in Anspruch 10 beansprucht.

[0044] Verschiedene Vektoren, einschließlich Plasmidvektoren, Cosmidvektoren, Bakteriophage-Vektoren und andere Viren sind dem durchschnittlich sachkundigen Fachmann gut bekannt. Die Erfindung stellt weiterhin bereit einen Vektor, der das isolierte Nukleinsäuremolekül, das das PSM- oder PSM'-Antigen kodiert, umfasst.

[0045] Als Beispiel um diese Vektoren zu erhalten, können sowohl Insert- als auch Vektor-DNA einem Restriktionsenzym ausgesetzt werden, um komplementäre Enden auf beiden Molekülen zu schaffen, die miteinander basenpaaren, und dann durch DNA-Ligase zusammenligiert werden. Alternativ können Linker an die Insert-DNA ligiert werden, die einer Restriktionsstelle in der Vektor-DNA entsprechen, welche dann mit dem Restriktionsenzym, das an dieser Stelle spaltet, verdaut wird. Andere Mittel sind ebenfalls möglich und einem durchschnittlichen Fachmann bekannt.

[0046] Die Erfindung stellt weiterhin bereit, ein Wirtsvektorsystem zur Herstellung eines Polypeptids, wie in Anspruch 11 beansprucht.

[0047] Diese Vektoren können in eine geeignete Wirtszelle transformiert werden, um ein Wirtszellvektorsystem zur Herstellung eines Polypeptids mit der biologischen Aktivität des PSM'-Antigens zu bilden.

[0048] Regulatorische Elemente, die für die Expression benötigt werden, enthalten Promotorsequenzen um die RNA-Polymerase zu binden, und Transkriptionsinitiationssequenzen zur Ribosomenbindung. Zum Beispiel enthält ein bakterieller Expressionsvektor einen Promotor wie den lac-Promotor, und zur Transkriptionsinitiation die Shine-Dalgarno-Sequenz und das Startkodon AUG (14). In ähnlicher Weise enthält ein eukaryotischer Expressionsvektor einen heterologen oder homologen Promotor für die RNA-Polymerase II, ein stromabwärts gelegenes Polyadenylierungssignal, das Startkodon AUG, und ein Terminationskodon zur Ablösung des Ribosoms. Solche Vektoren können kommerziell bezogen werden oder zusammengesetzt aus den beschriebenen Sequenzen durch im Stand der Technik gut bekannte Verfahren, zum Beispiel die oben beschriebenen Verfahren zum generellen Konstruieren von Vektoren. Expressionsvektoren sind nützlich um Zellen herzustellen, die das PSM-Antigen exprimieren.

[0049] Die Erfindung stellt weiter bereit ein hierin bereits beschriebenes isoliertes DNA- oder cDNA-Molekül, wobei die Wirtszelle ausgewählt ist aus der Gruppe bestehend aus Bakterienzellen (wie E. coli und Säugetierzellen.

[0050] Die Erfindung stellt weiter bereit ein Verfahren zum Herstellen eines Polypeptids, wie in Anspruch 13 beansprucht.

[0051] Zahlreiche Säugetierzellen können als Wirte verwendet werden, einschließlich aber nicht beschränkt

auf, die Maus-Fibroblastzelle NIH3T3, CHO-Zellen, HeLa-Zellen, Ltk⁻-Zellen, Cos-Zellen, etc. Expressionsplasmide, wie das supra beschriebene, können verwendet werden, um Säugetierzellen zu transfizieren durch im Stand der Technik gut bekannte Verfahren, wie Kalziumphosphatpräzipitation, Elektroporation, oder die DNA, die das Säugetier-PSM-Antigen kodiert, kann andererseits in Säugetierzellen eingebracht werden, z. B., durch Mikroinjektion, um Säugetierzellen zu erhalten, die DNA, z. B., cDNA oder ein Plasmid, enthalten, die/das ein Säugetier PSM-Antigen kodiert.

[0052] Die vorliegende Erfindung stellt bereit ein Verfahren zum Bestimmen des Fortschreitens von Prostatakrebs in einem Subjekt, wie in Anspruch 17 beansprucht. Vorzugsweise umfasst das Verfahren weiter das Durchführen von in-situ-Hybridisierung.

[0053] Beispiele geeigneter Promotoren schließen einen viralen Promotor ein. Virale Promotoren schließen ein: Adenovirus-Promotor, einen Simianvirus 40 (SV40)-Promotor, einen Cytomegalovirus (CMV)-Promotor, einen mouse mammary tumor virus (MMTV)-Promotor, einen Malony murine leukemia virus-Promotor, einen murine sarcoma virus-Promotor, und einen Rous sarcoma virus-Promotor.

[0054] Weiterhin ist ein anderer geeigneter Promotor ein Hitzeschock-Promotor. Zusätzlich ist ein Bakteriophage-Promotor ein geeigneter Promotor. Beispiele von geeigneten Bakteriophagen-Promotoren schließen ein, sind aber nicht beschränkt auf, einen T7-Promotor, einen T3-Promotor, einen SP6-Promotor, einen Lambda-Promotor, einen Baculovirus-Promotor.

[0055] Ebenfalls als ein Promotor geeignet ist ein Tierzell-Promotor wie ein Interferonpromotor, ein Metallothioneinpromotor, ein Immunglobulin-Promotor. Ein Pilzpromotor ist ebenfalls ein geeigneter Promotor. Beispiele von Pilzpromotoren schließen ein, sind aber nicht beschränkt auf, einen ADCI-Promotor, einen ARG-Promotor, einen ADH-Promotor, einen CYCI-Promotor, einen CUP-Promotor, einen ENOI-Promotor, einen GAL-Promotor, einen PHO-Promotor, einen PGK-Promotor, einen GAPDH-Promotor, einen "mating type factor"-Promotor. Ferner sind Pflanzenzell-Promotoren und Insektenzell-Promotoren ebenfalls geeignet für die hierin beschriebenen Verfahren.

[0056] Die Erfindung stellt weiter bereit ein isoliertes alternativ gespleißtes Prostataspezifisches Membranantigen (PSM'), wie in Anspruch 14 beansprucht.

[0057] Die Erfindung stellt weiter bereit ein Verfahren zum Detektieren hämatogener mikrometastatischer Tumorzellen, wie in Anspruch 15 beansprucht. Vorzugsweise stammen die Proben von einem Subjekt, dem die Hormone, epidermaler Wachstumsfaktor, Fibroblast-Wachstumsfaktoren b oder Tumornekrosefaktor, verabreicht wurden.

[0058] Die mikrometastatische Tumorzelle kann ein Prostatakarzinom sein, und die DNA-Primer können vom Prostataspezifischen Antigen stammen.

BEISPIEL 1:

ALTERNATIV GESPLEIßTE VARIANTEN DER RNA DES PROSTATASPEZIFISCHEN MEMBRANANTIGENS: VERHÄLTNIS DER EXPRESSION ALS EINE MÖGLICHE MESSUNG DES FORTSCHREITENS

MATERIALIEN UND METHODEN

Zelllinien.

[0059] Die Prostatakarzinomzelllinien LNCaP und PC-3 wurden in RPMI, bzw. MEM, ergänzt mit 5% fötalem Kälberserum, bei 37°C und 5% CO_2 kultiviert.

Primärgewebe.

[0060] Primäre Prostatagewebe wurden über MSKCC's in-house Tumorbeschaffungsservice bezogen. Grobe Proben wurden vom MSKCC's Pathologieservice pathologisch eingestuft.

RNA-Isolierung.

[0061] Gesamt-RNA wurde über ein modifiziertes Guanidinium Thiocyanat/Phenol/Chloroformverfahren un-

ter Verwendung eines RNAzol B-Kits (Tel-Test, Friendswood, TX) isoliert. RNA wurde in Diethylpyrocarbonat-behandeltem Wasser bei –80°C aufbewahrt. RNA wurde unter Verwendung spektrophometrischer Absorption bei 260nm quantifiziert.

cDNA-Synthese.

[0062] Zwei unterschiedliche Batches normaler Prostata-mRNAs, die von traumatoten Männern erhalten wurden (Clontech, Palo Alto, CA), wurden bei 70°C für 10 min. denaturiert, dann in cDNA revers transkribiert unter Verwendung von Random-Hexameren und reverser Transkriptase, Superscript II (GIBCO-BRL, Gaithersburg, MD), bei 50°C für 30 min., gefolgt von einer Inkubation für 5 min. bei 94°C.

Polymerase-Kettenreaktion.

[0063] Oligonukleotid-Primer (5'-CTCAAAAGGGGCCGGATTTCC-3' und 5'-AGGCTACTTCACTCAAAG-3'), spezifisch für die 5'- und 3'-Enden der PSM-cDNA wurden so gewählt, dass sie die cDNA-Sequenz überspannen. Die Reaktion wurde in einem 50 µl-Volumen durchgeführt mit einer Endkonzentration der folgenden Reagenzien:
16.6 mM NH_4SO_4, 67 mM Tris-HCl pH 8.8, acetyliertes BSA 0.2 mg/ml, 2mM $MgCl_2$, 250µM dNTPs, 10 mM β-Mercaptoethanol, und 1 U an rTth-Polymerase (Perkin Elmer, Norwalk, CT). Insgesamt wurden 25 Zyklen vollständig durchlaufen mit folgendem Profil:
Zyklus 1, 94°C 4 min.; Zyklus 2 bis 25, 94°C 1 min, 60°C 1 min, 72°C 1 min. Die letzte Reaktion wurde für 10 min bei 72°C ausgedehnt. Aliquots der Reaktion wurden auf 1 %-igen Agarosegelen in 1X Tris-Acetat-EDTA-Puffer elektrophoretisiert.

Klonieren der PCR-Produkte.

[0064] PCR-Produkte wurden über das TA-Klonierungsverfahren, unter Verwendung eines Kits von Invitrogen (San Diego, CA), in den pCRII-Vektor kloniert. Ligationsgemisch wurden in kompetente Escherichia coli Inv5α transformiert.

Sequenzierung.

[0065] Sequenzierung wurde über das Didesoxy-Verfahren unter Verwendung eines Sequenase-Kits von US-Biochemical (Cleveland, OH) ausgeführt. Sequenzierungsprodukte wurden auf einem 5%-igen Polyacrylamid/7M Harnstoff-Gel bei 52°C elektrophoretisiert.

RNase-Schutzassays.

[0066] Der Volllängen-PSM-cDNA-Klon wurde mit NgcM 1 und Nhal verdaut. Ein 350 Bp-Fragment wurde isoliert und in einen pSPORTl-Vektor (GIBCO-BRL, Gaithersburg, MD) subkloniert. Das resultierende Plasmid, pSP350, wurde linearisiert, und das Insert wurde mit der SP6-RNA-Polymerase transkribiert, um eine antisense-Sonde von 395 Nukleotiden Länge zu erhalten, von denen 355 Nukleotide und/oder 210 Nukleotide vor RNAse-Verdauung durch PSM-, bzw. PSM'-RNA geschützt sein sollten (**Fig.** 1). Gesamtzelluläre RNA (20 µg) aus verschiedenen Geweben wurden gegen die vorstehend erwähnte antisense-RNA-Sonde hybridisiert. Assays wurden wie beschrieben (7) durchgeführt. Als Negativkontrolle wurde tRNA verwendet. RPAs wurden für LNCaP und PC-3 wiederholt.

ERGEBNISSE

RT-PCR von mRNA aus normalem Prostatagewebe.

[0067] Zwei unabhängige RT-PCR von mRNA aus normalen Prostatas wurden durchgeführt, wie in Materialen und Methoden beschrieben. Anschließendes Klonieren und Sequenzieren der PCR-Produkte brachte das Vorhandensein einer alternativ gespleißten Variante, PSM', zum Vorschein. PSM' hat eine kürzere cDNA (2387 Nukleotide) als PSM (2653 Nukleotide). Die Ergebnisse der Sequenzanalyse sind in **Fig. 2** gezeigt. Die cDNAs sind identisch bis auf einen Bereich von 266 Nukleotiden, nahe dem 5'-Ende der PSM-cDNA (Nukleotid 114 bis 380), welcher in der PSM'-cDNA fehlt. Zwei unabhängige Wiederholungen der RT-PCR verschiedener mRNA-Proben führten zu identischen Ergebnissen.

RNase-Schutzassays.

[0068] Es wurde eine RNA-Sonde verwendet, die komplementär zur PSM-RNA ist, und die 3'-Spleißstelle der PSM'-RNA überspannt, um die relative Expression von PSM- und PSM'-mRNAs zu messen (Fig. 3). Mit dieser Sonde wurde sowohl PSM- als auch PSM'-RNAs in LNCaP-Zellen detektiert, wobei die vorherrschende Form PSM war. Weder PSM- noch PSM'-RNA wurde in PC-3-Zellen detektiert, in Übereinstimmung mit vorherigen Northern- und Western-Blot-Daten (5, 6). Fig. 4 zeigte das Vorhandensein beider Spleißvarianten in humanen primären Prostatageweben. Im primären Prostatatumor ist PSM die dominante Form. Im Gegensatz dazu exprimierte die normale Prostata mehr PSM' als PSM. BPH-Proben zeigten ungefähr gleiche Expression beider Varianten.

Tumorindex.

[0069] Die relative Expression von PSM und PSM' (Fig. 4) wurde über Densitometrie quantifiziert, und als ein Tumorindex ausgedrückt (Fig. 5). LNCaP hat einen Index im Bereich von 9–11; CaP von 3–6; BPH von 0.75–1.6; normale Prostata hat Werte von 0.075–0.45.

DISKUSSION

[0070] Sequenzierungsdaten der PCR-Produkte, die von humaner normaler Prostata-mRNA stammten, mit PSM-Oligonukleotidprimern des 5'- und 3'-Endes, enthüllten eine zweite Spleißvariante, PSM', zusätzlich zu der vorher beschriebenen PSM-cDNA.

[0071] PSM ist ein 750 AS-Protein mit einem errechneten Molekulargewicht von 84,330. Für PSM wurde angenommen, dass es ein Typ II integrales Membranprotein ist (5). Ein klassisches Typ II Membranprotein ist der Transferrinrezeptor, und tatsächlich besitzt PSM einen Bereich, der leichte Homologie mit dem Transferrinrezeptor aufweist (5). Analyse der PSM-Aminosäuresequenz durch eines der Verfahren von Rao und Argos (7) oder Eisenburg et. al. (8) sagten nachhaltig eine Transmembranhelix in dem Bereich von AS#20 bis #43 voraus. Beide Programme fanden weitere Bereiche, die membranassoziiert sein könnten, die aber nicht als wahrscheinliche Kandidaten, Transmembranbereiche zu sein, angesehen wurden.

[0072] Auf der anderen Seite ist das PSM'-Antigen ein 693 AS-Protein, wie aus seiner mRNA-Sequenz abgeleitet wurde, mit einem Molekulargewicht von 78,000. Dem PSM'-Antigen fehlen die ersten 57 Aminosäuren, die im PSM-Antigen vorhanden sind (Fig. 2). Es ist wahrscheinlich, dass das PSM'-Antigen cytosolisch ist.

[0073] Die Funktion von PSM und PSM' sind möglicherweise verschieden. Die zelluläre Lokalisierung des PSM-Antigens legt nahe, dass es entweder mit extra-, oder intrazellulärem(n) Ligand(en) oder beiden wechselwirken kann; während die von PSM' impliziert, dass PSM' nur mit cytosolischem(n) Ligand(en) reagieren kann. Weiterhin hat das PSM-Antigen 3 potentielle Phosphorylierungsstellen auf seiner cytosolischen Domäne. Diese Stellen fehlen im PSM'-Antigen. Auf der anderen Seite hat das PSM'-Antigen 25 potentielle Phosphorylierungsstellen, 10 N-Myristoylierungsstellen und 9 N-Glykosylierungsstellen. Für das PSM-Antigen würden all diese potentiellen Stellen auf der extrazellulären Oberfläche liegen. Die Modifizierungen dieser Stellen für die homologen Proteine wären unterschiedlich, abhängig von ihren zellulären Lokalisierungen. Folglich würde(n) die Funktion(en) jeder dieser Formen abhängig davon sein, wie sie modifiziert sind.

[0074] Die relativen Unterschiede der Expression von PSM und PSM' durch RNase Schutzassays wurde analysiert. Ergebnisse der Expression von PSM und PSM' in primären Prostatageweben legten nachhaltig eine Beziehung zwischen der relativen Expression dieser Varianten und dem Status der Zelle nahe: entweder normal oder krebsartig. Während hier darauf hingewiesen wird, dass die Probengröße der Studie klein ist (Fig. 4 und Fig. 5), ist die Konsistenz des Trends offensichtlich. Die verwendeten Proben waren grobe Proben von Patienten. Die Ergebnisse hätten sogar noch dramatischer sein können, wenn Proben verwendet worden wären, die rein im Gehalt an CaP, BPH oder normal gewesen wären. Nichtsdestotrotz wird in diesen Proben deutlich, dass bei der Änderung von normal zu CaP eine relative Zunahme von PSM- über PSM'-mRNA stattfindet. Der Tumorindex (Fig. 5) kann beim Messen des pathologischen Status' einer bestimmten Probe nützlich sein. Es ist ebenfalls möglich, dass die Veränderung in der Expression von PSM über PSM' ein Grund für Tumorprogression ist. Ein differenzierteres Tumorstadium kann über PSM' wieder hergestellt werden, entweder durch Transfektion oder durch die Verwendung von Differenzierungsagenzien.

Literaturstellen von Beispiel 1

1. Murphy, G.P. Report on the American Urologic Association/American Cancer Society Scientific Seminar on the Detection and treatment of Early-Stage Prostate Cancer. CA Cancer J. Clin. 44:91-95, 1994.
2. Israeli, R.S., Miller Jr., W.H.,. Su, S.L., Powell, C.T., Fair, W.R., Samadi, D.S., Huryk, R.F., DelBlasio, A., Edwards, E.T, and Heston, W.D.W. Sensitive Nested Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction Detection of Circulating Prostatic Tumor Cells: Comparison of Prostate-specific Membrane Antigen and Prostatespecific Antigen-based Assays. Cancer Res., 54: 6325–6329, 1994.
3. Horoszewicz, J.S., Kawinaki, E., and Murphy, G.P. Monoclonal antibodies to a new antigenic marker in epithelial cells and serum of prostatic cancer patients. Anticancer Res., 7:927-936, 1987.
4. Horoszewicz, J.S., Leong, S.S., Kawinski, E., Karr, J.P., Rosenthal, H., Chu, T.M., Mirand, E.A. and Murphy, G.P. LNCaP model of human prostatic Carcinoma. Cancer Res., 43:1809-1818, 1983.
5. Israeli, R.S., Powell, C.T., Fair, W.R. and Heston, W.D.W. Molecular cloning of a complementary DNA encoding a prostate-specific membrane antigen. Cancer Res., 53:227-230, 1993.
W.D.W. Expression o6. Israeli, R.S., Powell, C.T., Corr, J.G., Fair, W.R. and Heston, f the prostate-specific membrane antigen. Cancer Res., 54:1807-1811, 1994.
7. Melton, D.A., Krieg, P.A., Rebagliati, M.R., Maniatis, T., Zinn, K. and Green, M.R. Efficient in vitro synthesis of biologically active RNA and RNA hybridization probes from plasmids containing a bacteriophage SP6 promoter. Nucleic Acids Res., 12:7035-7056, 1984.
8. Rao, M.J.K. and Argos, P. A conformational preference parameter to predict helices in integral membrane proteins. Biochim. Biophys. Acta, 869:197-214, 1986.
9. Eisenburg, D., Schwarz, E., Komaromy, M. and Wall, R. Analysis of membrane and surface protein sequences with the hydrophbic moment plot, J. Mol. Biol. 179:125-142, 1984.
10. Troyer, J.K. and Wright Jr.,G.L. Biochemical characterization and mapping of 7E-11 C-5.3. Epitope of the prostate specific membrane antigen (PSMA). American Aspect oAssociation for Cancer Research Special Conference: Basic and Clinical f Prostate Cancer. Abstract C-38, 1994.

BEISPIEL 2

MODULIERUNG DER EXPRESSION DES PROSTATASPEZIFISCHEN MEMBRANANTIGENS (PSM) IN VITRO DURCH ZYTOKINE UND WACHSTUMSFAKTOREN.

[0075] Die Effektivität von CYT-356-Imaging wird durch Manipulieren der Expression von PSM verstärkt. PSM-mRNA-Expression wird durch Steroide runterreguliert. Das ist übereinstimmend mit den klinischen Beobachtungen, dass PSM sowohl in anaplastischen, als auch Hormon-unempfindlichen Läsionen stark exprimiert wird. Im Gegensatz dazu ist die PSA-Expression im Anschluss an Hormonentzug verringert. Bei Hormon-unempfindlicher Krankheit wird angenommen, dass die Tumorzellen sowohl Wachstumsfaktoren, als auch Rezeptoren herstellen können, und somit eine autokrine Schleife aufbauen, die es den Zellen erlaubt, normale Wachstumsbeschränkungen zu überwinden. Viele Prostatatumor-Epithelzellen exprimieren sowohl TGFα als auch seinen Rezeptor, den epidermalen Wachstumsfaktor-Rezeptor. Die Ergebnisse zeigen an, dass die Wirkungen von TGFα und anderen ausgewählten Wachstumsfaktoren und Zytokinen auf die Expression von PSM invitro, in der humanen Prostatakarzinomzelllinie LNCaP.

[0076] 2×10^6 LNCaP-Zellen, die in Androgen-abgereichertem Medium wachsen, wurden für 24 bis 72 Stunden mit EGF, TGFα, TNFβ oder TNFα in Konzentrationen im Bereich von 0.1 ng/ml bis 100 ng/ml behandelt. Gesamt-RNA wurde aus den Zellen extrahiert, und PSM-mRNA-Expression wurde über Northern-Blot-Analyse und Laser-Densitometrie quantifiziert. Sowohl b-FGF als auch TGFα ergaben eine dosisabhättgige 10-fache Hochregulierung der PSM-Expression, und EGF eine 5-fache Hochregulation, verglichen mit unbehandelten LNCaP. Im Gegensatz hierzu haben andere Gruppen im selben in-vitro-Model, eine durch diese Wachstumsfaktoren induzierte merkliche Runterregulierung der PSA-Expression gezeigt. TNFα, welches cytotoxisch für LNCaP-Zellen ist, und TNFβ regulierten die PSM-Expression in Androgen-abgereicherten LNCaP-Zellen 8-fach runter.

[0077] TGFα ist mitogen für aggressive Prostatakrebszellen. Es gibt zahlreiche Formen von PSM und lediglich die Membranform kommt in Verbindung mit Tumorprogression vor. Die Fähigkeit die PSM-Expression durch Behandlung mit Zytokinen und Wachstumsfaktoren zu manipulieren, kann die Wirksamkeit von Zytogen-356-Imaging und das therapeutische Targeting von Prostatametastasen erleichtern.

BEISPIEL 3:

NEOADJUVANTE ANDROGEN-DEPRIVATIONS-THERAPIE (ADT) VOR RADIKALER PROSTATEKTOMIE FÜHRT ZU EINER SIGNIFIKANT REDUZIERTEN HÄUFIGKEIT VON VERBLEIBENDER MIKROMETASTATISCHER KRANKHEIT, WIE DURCH NESTED RT-PCT MIT PRIMERN DETEKTIERT.

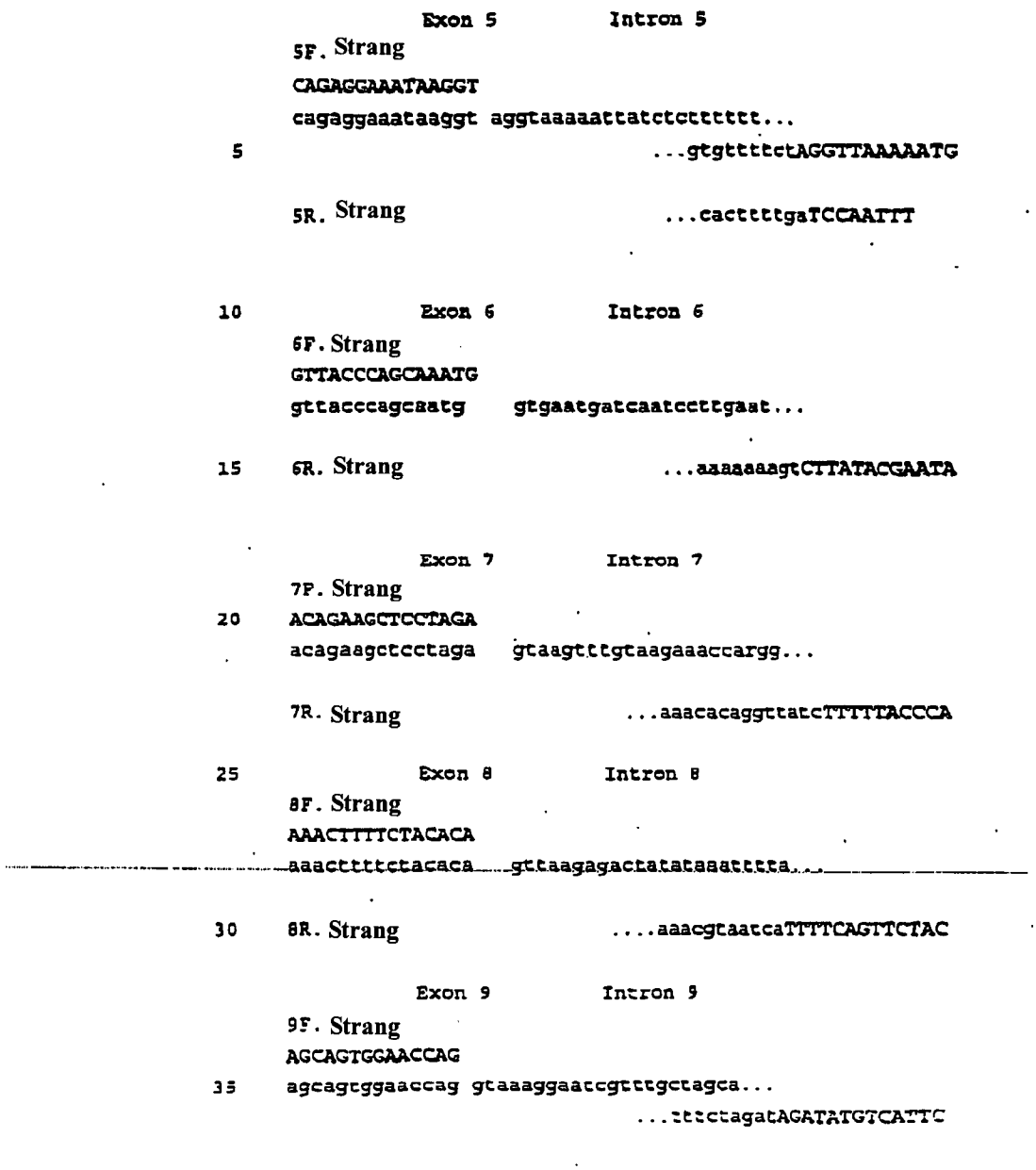
[0078] Radikale Prostatektomie bei klinisch lokalisiertem Prostatakrebs wird von vielen als die "goldene Standard"-Behandlung angesehen. Fortschritte im Laufe der letzten Dekade haben dafür gesorgt, die Morbidität drastisch zu verringern. Verbesserungen dazu gedacht, den klinischen Ärzten zu helfen, Patienten präoperativ besser einzustufen sind entwickelt worden, dennoch überschreitet die Häufigkeit der Verbreitung außerhalb der Prostata immer noch 50 %, wie in zahlreichen Studien beschrieben. Eine Phase-III randomisierte prospektive klinische Studie wurde durchgeführt, die derart gestaltet war, die Wirkungen von ADT über 3 Monate zu vergleichen, in Patienten, die sich einer radikalen Prostatektomie unterziehen mit ungefähr passenden Kontrollen, die lediglich die Operation erhielten. Die vorher abgeschlossene Phase II-Studie zeigte eine positive Quote von 10% in der ADT-Gruppe (N = 69) im Vergleich zu einer 33 %igen positiven Quote (N = 72) in der "Nur Operation"-Gruppe. Patienten, die die Phase III-Studie abgeschlossen hatten, wurden analysiert um zu bestimmen, ob es irgendwelche Unterschiede zwischen den zwei Gruppen im Hinblick auf verbleibende mikrometastatische Krankheit gibt. Ein positives PCR-Ergebnis in einem post-Prostatektomie-Patienten kennzeichnet entwicklungsfähige metastatische Zellen im Kreislauf.

[0079] Nested RT-PCR wurde mit PSM-Primern bei 12 Patienten aus der ADT-Gruppe und bei 10 Patienten der Kontrollgruppe durchgeführt. Mikrometastatische Zellen wurden in 9/10 Patienten in der Kontrollgruppe detektiert (90%), im Vergleich zu lediglich 2/12 (15.7%) in der ADT-Gruppe. In der ADT-Gruppe wurde 1 von 7 Patienten mit auf das Organ begrenzter Krankheit positiv getestet, im Vergleich zu 3 von 3 Patienten in der Kontrollgruppe. In Patienten mit Krankheit außerhalb der Prostata, waren 1 von 5 positiv in der ADT-Gruppe, im Vergleich zu 6 von 7 in der Kontrollgruppe. Diese Ergebnisse zeigen an, dass durch die Verwendung von neoadjuvanter ADT eine signifikant höhere Anzahl von Patienten vom Tumor befreit, und möglicherweise "geheilt" werden kann.

BEISPIEL 4:

GENOMISCHE ORGANISATION DER PSM EXON-/INTRONVERBINDUNGSSEQUENZEN

```
                EXON 1            Intron 1
      1F. Strang
      CGGCTTCCTCTTCGG
      cggcttcctcttcgg   taggggggcgcctcgcggag...tatttttca

      1R. Strang                          ...ataaaaagtCCCACCAAA

                Exon 2            Intron 2
      2F. Strang
      ACATCAAGAAGTTCT
      acatcaagaagttct   caagtaagtccatactcgaag...

      2R. Strang                          ...caagtggtcATTAAAATG

                Exon 3            Intron 3
      3F. Strang
      GAAGATGGAAATGAG
      gaagatggaaatgag   gtaaaatataaataaataaataa...

                Exon 4            Intron 4
      4F. Strang
      AAGGAATGCCAGAGG
      aaggaatgccagagg   taaaaacacagtgcaacaaa...

      4R. Strang                          ...agagttgTCCCGCTAGAT
```


Exon 5
Intron 5
5F. Strang
CAGAGGAAATAAGGT
cagaggaaataaggt aggtaaaaattatctcttttt...
...gtgtttttctAGGTTAAAAATG
5R. Strang
...cacttttgaTCCAATTT
Exon 6
Intron 6
6F. Strang
GTTACCCAGCAAATG
gttacccagcaatg gtgaatgatcaatccttgaat...
6R. Strang
...aaaaaaagtCTTATACGAATA
Exon 7
Intron 7
7F. Strang
ACAGAAGCTCCTAGA
acagaagctcctaga gtaagtttgtaagaaaccargg...
7R. Strang
...aaacacaggttatcTTTTTACCCA
Exon 8
Intron 8
8F. Strang
AAACTTTTCTACACA
aaacttttctacaca gttaagagactatataaatttta...
8R. Strang
....aaacgtaatcaTTTTCAGTTCTAC
Exon 9
Intron 9
9F. Strang
AGCAGTGGAACCAG
agcagtggaaccag gtaaaggaatcgtttgctagca...
...tttctagatAGATATGTCATTC

9R. Strang

...aaagaTCTGTCTATACAGTAA

Exon 10 Intron 10

10F. Strang

CTGAAAAAGGAAGG

ctgaaaaaggaagg taatacaaacaaatagcaagaa...

Exon 11 Intron 11

11F. Strang

TGAGTGGGCAGAGG

agagg ttagttggtaatttgctataatata...

Exon 13 Intron 12

12R. Strang

GAGTGTAGTTTCCT

gtagtttcct gaaaaataagaaaagaatagat...

Exon 14 Intron 13

13R. Strang

AGGGCTTTTCAGCT

agggcttttcagct acacaaattaaaagaaaaaaag...

Exon 14 Intron 14

14F. Strang

GTGGCATGCCCAGG

gtggcatgcccagg taaatcaaatgaatgaagtttcca...

Exon 16 Intron 15

15R. Strang

AATTTGTTTGTTTCC

aatttgtttgtttcc tacagaaaaaacaacaaaaca...

Exon 16 Intron 16

16F. Strang

CAGTGTATCATTTG

cagtgtatcatttg gtatgttacccttcctttttcaaatt...

...tttcagATTCACTTTTTT

16R. Strang ...aaagtcTAAGTGAAAA

Exon 17 Intron 17

17F. Strang

TTTGACAAAAGCAA

tttgacaaaagcaa gtatgttctacatatatgtgcatat...

17R. Strang ...aaagagtcGGGTTA

Exon 18 Intron 18

18F. Strang

GGCCTTTTTATAGG

ggccttttttatagg taaganaagaaaatatgactcct...

18R. Strang ...aatagttgTGTAAACCC

Exon 19 Intron 19

19F. Strang

GAATATTATATATA

gaatattatatata gttatgtgagtgtttatatatgtgtgt...

Anmerkung: F: Vorwärtsstrang
R: Rückwärtsstrang

SEQUENZPROTOKOLL

(1) ALLGEMEINE INFORMATION:

(i) ANMELDER: Sloan Kettering Institute For Cancer Research

(ii) TITEL DER ERFINDUNG: PROSTATASPEZIFISCHES MEMBRANES ANTIGEN UND SEINE ANWENDUNGEN

(iii) ANZAHL DER SEQUENZEN: 48

(iv) KORRESPONDENZADRESSE:
(A) ADRESSAT: Cooper & Dunham LLP
(B) STRASSE: 1185 Avenue of the Americas
(C) STADT: New York
(D) STAAT: New York
(E) LAND: United States of America
(F) PLZ: 10036

(v) COMPUTERLESBARE FORM
(A) MEDIUM TYP : Floppy disk
(B) COMPUTER: IBM 330 466 DX2
(C) BETRIEBSSYSTEM : PC-DOS/MS-DOS
(D) SOFTWARE: PatentIn Release #1.0, Version #1.25

(vi) AKTUELLE ANMELDEDATEN:
(A) ANMELDENUMMER:
(B) ANMELDETAG:
(C) KLASSIFIZIERUNG:

(viii) ANWALT/VERTRETER INFORMATION:
(A) NAME: WHITE, John P.
(B) REGISTRIERUNGSNUMMER: 28,678
(C) REFERENZ/AKTENZEICHEN:

(ix) TELEKOMMUNIKATION INFORMATION:
(A) TELEFON: (212) 278-0400
(B) TELEFAX: (212) 391-0525

(2) ANGABEN ÜBER SEQ ID NR: 1:

(i) SEQUENZMERKMALE:
(A) LÄNGE: 2653 BASENPAARE
(B) TYP : NUKLEINSÄURE
(C) STRÄNGIGKEIT: DOPPEL
(D) TOPOLOGIE: LINEAR

(ii) MOLEKÜLTYP: cDNA

(iii) HYPOTHETISCH: NEIN

(iv) ANTI-SENSE: NEIN

(vi) ORIGINALHERKUNFT:
(A) ORANSIMUS: Homo sapiens
(F) GEWEBETYP: Karzinom

(vii) UNMITTELBARE HERKUNFT:

SEQP

(B) KLON: Prostataspezifisches Membranantigen

(ix) EIGENSCHAFT:
(A) NAME/SCHLÜSSEL: CDS
(B) POSITION: 262..2511

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG:SEQ ID NR: 1:

```
CTCAAAAGGG GCCGGATTTC CTTCTCCTGG AGGCAGATGT TGCCTCTCTC TCTCGCTCGG
   60

ATTGGTTCAG TGCACTCTAG AAACACTGCT GTGGTGGAGA AACTGGACCC CAGGTCTGGA
  120

GCGAATTCCA GCCTGCAGGG CTGATAAGCG AGGCATTAGT GAGATTGAGA GAGACTTTAC
  180

CCCGCCGTGG TGGTTGGAGG GCGCGCAGTA GAGCAGCAGC ACAGGCGCGG GTCCCGGGAG
  240

GCCGGCTCTG CTCGCGCCGA G ATG TGG AAT CTC CTT CAC GAA ACC GAC TCG
  291
                        Met Trp Asn Leu Leu His Glu Thr Asp Ser
                          1               5                  10

GCT GTG GCC ACC GCG CGC CGC CCG CGC TGG CTG TGC GCT GGG GCG CTG
  339
Ala Val Ala Thr Ala Arg Arg Pro Arg Trp Leu Cys Ala Gly Ala Leu
                  15                  20                  25

GTG CTG GCG GGT GGC TTC TTT CTC CTC GGC TTC CTC TTC GGG TGG TTT
  387
Val Leu Ala Gly Gly Phe Phe Leu Leu Gly Phe Leu Phe Gly Trp Phe
              30                  35                  40

ATA AAA TCC TCC AAT GAA GCT ACT AAC ATT ACT CCA AAG CAT AAT ATG
  435
Ile Lys Ser Ser Asn Glu Ala Thr Asn Ile Thr Pro Lys His Asn Met
          45                  50                  55

AAA GCA TTT TTG GAT GAA TTG AAA GCT GAG AAC ATC AAG AAG TTC TTA
  483
Lys Ala Phe Leu Asp Glu Leu Lys Ala Glu Asn Ile Lys Lys Phe Leu
      60                  65                  70

TAT AAT TTT ACA CAG ATA CCA CAT TTA GCA GGA ACA GAA CAA AAC TTT
  531
Tyr Asn Phe Thr Gln Ile Pro His Leu Ala Gly Thr Glu Gln Asn Phe
  75                  80                  85                  90

CAG CTT GCA AAG CAA ATT CAA TCC CAG TGG AAA GAA TTT GGC CTG GAT
  579
Gln Leu Ala Lys Gln Ile Gln Ser Gln Trp Lys Glu Phe Gly Leu Asp
                  95                  100                 105

TCT GTT GAG CTA GCA CAT TAT GAT GTC CTG TTG TCC TAC CCA AAT AAG
  627
Ser Val Glu Leu Ala His Tyr Asp Val Leu Leu Ser Tyr Pro Asn Lys
              110                 115                 120
```

SEQP

```
ACT CAT CCC AAC TAC ATC TCA ATA ATT AAT GAA GAT GGA AAT GAG ATT
  675
Thr His Pro Asn Tyr Ile Ser Ile Ile Asn Glu Asp Gly Asn Glu Ile
        125                 130                 135

TTC AAC ACA TCA TTA TTT GAA CCA CCT CCT CCA GGA TAT GAA AAT GTT
  723
Phe Asn Thr Ser Leu Phe Glu Pro Pro Pro Pro Gly Tyr Glu Asn Val
    140                 145                 150

TCG GAT ATT GTA CCA CCT TTC AGT GCT TTC TCT CCT CAA GGA ATG CCA
  771
Ser Asp Ile Val Pro Pro Phe Ser Ala Phe Ser Pro Gln Gly Met Pro
155                 160                 165                 170

GAG GGC GAT CTA GTG TAT GTT AAC TAT GCA CGA ACT GAA GAC TTC TTT
  819
Glu Gly Asp Leu Val Tyr Val Asn Tyr Ala Arg Thr Glu Asp Phe Phe
                175                 180                 185

AAA TTG GAA CGG GAC ATG AAA ATC AAT TGC TCT GGG AAA ATT GTA ATT
  867
Lys Leu Glu Arg Asp Met Lys Ile Asn Cys Ser Gly Lys Ile Val Ile
            190                 195                 200

GCC AGA TAT GGG AAA GTT TTC AGA GGA AAT AAG GTT AAA AAT GCC CAG
  915
Ala Arg Tyr Gly Lys Val Phe Arg Gly Asn Lys Val Lys Asn Ala Gln
        205                 210                 215

CTG GCA GGG GCC AAA GGA GTC ATT CTC TAC TCC GAC CCT GCT GAC TAC
  963
Leu Ala Gly Ala Lys Gly Val Ile Leu Tyr Ser Asp Pro Ala Asp Tyr
    220                 225                 230

TTT GCT CCT GGG GTG AAG TCC TAT CCA GAT GGT TGG AAT CTT CCT GGA
 1011
Phe Ala Pro Gly Val Lys Ser Tyr Pro Asp Gly Trp Asn Leu Pro Gly
235                 240                 245                 250

GGT GGT GTC CAG CGT GGA AAT ATC CTA AAT CTG AAT GGT GCA GGA GAC
 1059
Gly Gly Val Gln Arg Gly Asn Ile Leu Asn Leu Asn Gly Ala Gly Asp
                255                 260                 265

CCT CTC ACA CCA GGT TAC CCA GCA AAT GAA TAT GCT TAT AGG CGT GGA
 1107
Pro Leu Thr Pro Gly Tyr Pro Ala Asn Glu Tyr Ala Tyr Arg Arg Gly
            270                 275                 280

ATT GCA GAG GCT GTT GGT CTT CCA AGT ATT CCT GTT CAT CCA ATT GGA
 1155
Ile Ala Glu Ala Val Gly Leu Pro Ser Ile Pro Val His Pro Ile Gly
        285                 290                 295

TAC TAT GAT GCA CAG AAG CTC CTA GAA AAA ATG GGT GGC TCA GCA CCA
 1203
Tyr Tyr Asp Ala Gln Lys Leu Leu Glu Lys Met Gly Gly Ser Ala Pro
    300                 305                 310

CCA GAT AGC AGC TGG AGA GGA AGT CTC AAA GTG CCC TAC AAT GTT GGA
```

SEQP

```
 1251
Pro Asp Ser Ser Trp Arg Gly Ser Leu Lys Val Pro Tyr Asn Val Gly
315                 320                 325                 330

CCT GGC TTT ACT GGA AAC TTT TCT ACA CAA AAA GTC AAG ATG CAC ATC
 1299
Pro Gly Phe Thr Gly Asn Phe Ser Thr Gln Lys Val Lys Met His Ile
                335                 340                 345

CAC TCT ACC AAT GAA GTG ACA AGA ATT TAC AAT GTG ATA GGT ACT CTC
 1347
His Ser Thr Asn Glu Val Thr Arg Ile Tyr Asn Val Ile Gly Thr Leu
            350                 355                 360

AGA GGA GCA GTG GAA CCA GAC AGA TAT GTC ATT CTG GGA GGT CAC CGG
 1395
Arg Gly Ala Val Glu Pro Asp Arg Tyr Val Ile Leu Gly Gly His Arg
        365                 370                 375

GAC TCA TGG GTG TTT GGT GGT ATT GAC CCT CAG AGT GGA GCA GCT GTT
 1443
Asp Ser Trp Val Phe Gly Gly Ile Asp Pro Gln Ser Gly Ala Ala Val
    380                 385                 390

GTT CAT GAA ATT GTG AGG AGC TTT GGA ACA CTG AAA AAG GAA GGG TGG
 1491
Val His Glu Ile Val Arg Ser Phe Gly Thr Leu Lys Lys Glu Gly Trp
395                 400                 405                 410

AGA CCT AGA AGA ACA ATT TTG TTT GCA AGC TGG GAT GCA GAA GAA TTT
 1539
Arg Pro Arg Arg Thr Ile Leu Phe Ala Ser Trp Asp Ala Glu Glu Phe
                415                 420                 425

GGT CTT CTT GGT TCT ACT GAG TGG GCA GAG GAG AAT TCA AGA CTC CTT
 1587
Gly Leu Leu Gly Ser Thr Glu Trp Ala Glu Glu Asn Ser Arg Leu Leu
            430                 435                 440

CAA GAG CGT GGC GTG GCT TAT ATT AAT GCT GAC TCA TCT ATA GAA GGA
 1635
Gln Glu Arg Gly Val Ala Tyr Ile Asn Ala Asp Ser Ser Ile Glu Gly
        445                 450                 455

AAC TAC ACT CTG AGA GTT GAT TGT ACA CCG CTG ATG TAC AGC TTG GTA
 1683
Asn Tyr Thr Leu Arg Val Asp Cys Thr Pro Leu Met Tyr Ser Leu Val
    460                 465                 470

CAC AAC CTA ACA AAA GAG CTG AAA AGC CCT GAT GAA GGC TTT GAA GGC
 1731
His Asn Leu Thr Lys Glu Leu Lys Ser Pro Asp Glu Gly Phe Glu Gly
475                 480                 485                 490

AAA TCT CTT TAT GAA AGT TGG ACT AAA AAA AGT CCT TCC CCA GAG TTC
 1779
Lys Ser Leu Tyr Glu Ser Trp Thr Lys Lys Ser Pro Ser Pro Glu Phe
                495                 500                 505

AGT GGC ATG CCC AGG ATA AGC AAA TTG GGA TCT GGA AAT GAT TTT GAG
 1827
```

SEQP

```
Ser Gly Met Pro Arg Ile Ser Lys Leu Gly Ser Gly Asn Asp Phe Glu
            510                 515                 520

GTG TTC TTC CAA CGA CTT GGA ATT GCT TCA GGC AGA GCA CGG TAT ACT
 1875
Val Phe Phe Gln Arg Leu Gly Ile Ala Ser Gly Arg Ala Arg Tyr Thr
        525                 530                 535

AAA AAT TGG GAA ACA AAC AAA TTC AGC GGC TAT CCA CTG TAT CAC AGT
 1923
Lys Asn Trp Glu Thr Asn Lys Phe Ser Gly Tyr Pro Leu Tyr His Ser
    540                 545                 550

GTC TAT GAA ACA TAT GAG TTG GTG GAA AAG TTT TAT GAT CCA ATG TTT
 1971
Val Tyr Glu Thr Tyr Glu Leu Val Glu Lys Phe Tyr Asp Pro Met Phe
555                 560                 565                 570

AAA TAT CAC CTC ACT GTG GCC CAG GTT CGA GGA GGG ATG GTG TTT GAG
 2019
Lys Tyr His Leu Thr Val Ala Gln Val Arg Gly Gly Met Val Phe Glu
                575                 580                 585

CTA GCC AAT TCC ATA GTG CTC CCT TTT GAT TGT CGA GAT TAT GCT GTA
 2067
Leu Ala Asn Ser Ile Val Leu Pro Phe Asp Cys Arg Asp Tyr Ala Val
            590                 595                 600

GTT TTA AGA AAG TAT GCT GAC AAA ATC TAC AGT ATT TCT ATG AAA CAT
 2115
Val Leu Arg Lys Tyr Ala Asp Lys Ile Tyr Ser Ile Ser Met Lys His
        605                 610                 615

CCA CAG GAA ATG AAG ACA TAC AGT GTA TCA TTT GAT TCA CTT TTT TCT
 2163
Pro Gln Glu Met Lys Thr Tyr Ser Val Ser Phe Asp Ser Leu Phe Ser
    620                 625                 630

GCA GTA AAG AAT TTT ACA GAA ATT GCT TCC AAG TTC AGT GAG AGA CTC
 2211
Ala Val Lys Asn Phe Thr Glu Ile Ala Ser Lys Phe Ser Glu Arg Leu
635                 640                 645                 650

CAG GAC TTT GAC AAA AGC AAC CCA ATA GTA TTA AGA ATG ATG AAT GAT
 2259
Gln Asp Phe Asp Lys Ser Asn Pro Ile Val Leu Arg Met Met Asn Asp
                655                 660                 665

CAA CTC ATG TTT CTG GAA AGA GCA TTT ATT GAT CCA TTA GGG TTA CCA
 2307
Gln Leu Met Phe Leu Glu Arg Ala Phe Ile Asp Pro Leu Gly Leu Pro
            670                 675                 680

GAC AGG CCT TTT TAT AGG CAT GTC ATC TAT GCT CCA AGC AGC CAC AAC
 2355
Asp Arg Pro Phe Tyr Arg His Val Ile Tyr Ala Pro Ser Ser His Asn
        685                 690                 695

AAG TAT GCA GGG GAG TCA TTC CCA GGA ATT TAT GAT GCT CTG TTT GAT
 2403
Lys Tyr Ala Gly Glu Ser Phe Pro Gly Ile Tyr Asp Ala Leu Phe Asp
```

SEQP

```
    700                 705                 710

ATT GAA AGC AAA GTG GAC CCT TCC AAG GCC TGG GGA GAA GTG AAG AGA
 2451
Ile Glu Ser Lys Val Asp Pro Ser Lys Ala Trp Gly Glu Val Lys Arg
715                 720                 725                 730

CAG ATT TAT GTT GCA GCC TTC ACA GTG CAG GCA GCT GCA GAG ACT TTG
 2499
Gln Ile Tyr Val Ala Ala Phe Thr Val Gln Ala Ala Ala Glu Thr Leu
                735                 740                 745

AGT GAA GTA GCC TAAGAGGATT CTTTAGAGAA TCCGTATTGA ATTTGTGTGG
 2551
Ser Glu Val Ala
            750

TATGTCACTC AGAAAGAATC GTAATGGGTA TATTGATAAA TTTTAAAATT GGTATATTTG
 2611

AAATAAAGTT GAATATTATA TATAAAAAAA AAAAAAAAAA AA
 2653
```

(2) ANGABEN ÜBER SEQ ID NR: 2:

(i) SEQUENZMERKMALE:
(A) LÄNGE: 750 Aminosäuren
(B) TYP: Aminosäure
(D) TOPOLOGIE: linear

(ii) MOLEKÜLTYP: Protein

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG:SEQ ID NR:2:

```
Met Trp Asn Leu Leu His Glu Thr Asp Ser Ala Val Ala Thr Ala Arg
  1               5                  10                  15

Arg Pro Arg Trp Leu Cys Ala Gly Ala Leu Val Leu Ala Gly Gly Phe
             20                  25                  30

Phe Leu Leu Gly Phe Leu Phe Gly Trp Phe Ile Lys Ser Ser Asn Glu
         35                  40                  45

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

Leu Lys Ala Glu Asn Ile Lys Lys Phe Leu Tyr Asn Phe Thr Gln Ile
 65                  70                  75                  80

Pro His Leu Ala Gly Thr Glu Gln Asn Phe Gln Leu Ala Lys Gln Ile
                 85                  90                  95

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

Tyr Asp Val Leu Leu Ser Tyr Pro Asn Lys Thr His Pro Asn Tyr Ile
        115                 120                 125

Ser Ile Ile Asn Glu Asp Gly Asn Glu Ile Phe Asn Thr Ser Leu Phe
    130                 135                 140
```

SEQP

```
Glu Pro Pro Pro Pro Gly Tyr Glu Asn Val Ser Asp Ile Val Pro Pro
145                 150                 155                 160

Phe Ser Ala Phe Ser Pro Gln Gly Met Pro Glu Gly Asp Leu Val Tyr
                165                 170                 175

Val Asn Tyr Ala Arg Thr Glu Asp Phe Phe Lys Leu Glu Arg Asp Met
            180                 185                 190

Lys Ile Asn Cys Ser Gly Lys Ile Val Ile Ala Arg Tyr Gly Lys Val
        195                 200                 205

Phe Arg Gly Asn Lys Val Lys Asn Ala Gln Leu Ala Gly Ala Lys Gly
    210                 215                 220

Val Ile Leu Tyr Ser Asp Pro Ala Asp Tyr Phe Ala Pro Gly Val Lys
225                 230                 235                 240

Ser Tyr Pro Asp Gly Trp Asn Leu Pro Gly Gly Gly Val Gln Arg Gly
                245                 250                 255

Asn Ile Leu Asn Leu Asn Gly Ala Gly Asp Pro Leu Thr Pro Gly Tyr
            260                 265                 270

Pro Ala Asn Glu Tyr Ala Tyr Arg Arg Gly Ile Ala Glu Ala Val Gly
        275                 280                 285

Leu Pro Ser Ile Pro Val His Pro Ile Gly Tyr Tyr Asp Ala Gln Lys
    290                 295                 300

Leu Leu Glu Lys Met Gly Gly Ser Ala Pro Pro Asp Ser Ser Trp Arg
305                 310                 315                 320

Gly Ser Leu Lys Val Pro Tyr Asn Val Gly Pro Gly Phe Thr Gly Asn
                325                 330                 335

Phe Ser Thr Gln Lys Val Lys Met His Ile His Ser Thr Asn Glu Val
            340                 345                 350

Thr Arg Ile Tyr Asn Val Ile Gly Thr Leu Arg Gly Ala Val Glu Pro
        355                 360                 365

Asp Arg Tyr Val Ile Leu Gly Gly His Arg Asp Ser Trp Val Phe Gly
    370                 375                 380

Gly Ile Asp Pro Gln Ser Gly Ala Ala Val Val His Glu Ile Val Arg
385                 390                 395                 400

Ser Phe Gly Thr Leu Lys Lys Glu Gly Trp Arg Pro Arg Arg Thr Ile
                405                 410                 415

Leu Phe Ala Ser Trp Asp Ala Glu Glu Phe Gly Leu Leu Gly Ser Thr
            420                 425                 430

Glu Trp Ala Glu Glu Asn Ser Arg Leu Leu Gln Glu Arg Gly Val Ala
        435                 440                 445

Tyr Ile Asn Ala Asp Ser Ser Ile Glu Gly Asn Tyr Thr Leu Arg Val
    450                 455                 460
```

SEQP

```
Asp Cys Thr Pro Leu Met Tyr Ser Leu Val His Asn Leu Thr Lys Glu
465                 470                 475                 480

Leu Lys Ser Pro Asp Glu Gly Phe Glu Gly Lys Ser Leu Tyr Glu Ser
                485                 490                 495

Trp Thr Lys Lys Ser Pro Ser Pro Glu Phe Ser Gly Met Pro Arg Ile
            500                 505                 510

Ser Lys Leu Gly Ser Gly Asn Asp Phe Glu Val Phe Phe Gln Arg Leu
        515                 520                 525

Gly Ile Ala Ser Gly Arg Ala Arg Tyr Thr Lys Asn Trp Glu Thr Asn
    530                 535                 540

Lys Phe Ser Gly Tyr Pro Leu Tyr His Ser Val Tyr Glu Thr Tyr Glu
545                 550                 555                 560

Leu Val Glu Lys Phe Tyr Asp Pro Met Phe Lys Tyr His Leu Thr Val
                565                 570                 575

Ala Gln Val Arg Gly Gly Met Val Phe Glu Leu Ala Asn Ser Ile Val
            580                 585                 590

Leu Pro Phe Asp Cys Arg Asp Tyr Ala Val Val Leu Arg Lys Tyr Ala
        595                 600                 605

Asp Lys Ile Tyr Ser Ile Ser Met Lys His Pro Gln Glu Met Lys Thr
    610                 615                 620

Tyr Ser Val Ser Phe Asp Ser Leu Phe Ser Ala Val Lys Asn Phe Thr
625                 630                 635                 640

Glu Ile Ala Ser Lys Phe Ser Glu Arg Leu Gln Asp Phe Asp Lys Ser
                645                 650                 655

Asn Pro Ile Val Leu Arg Met Met Asn Asp Gln Leu Met Phe Leu Glu
            660                 665                 670

Arg Ala Phe Ile Asp Pro Leu Gly Leu Pro Asp Arg Pro Phe Tyr Arg
        675                 680                 685

His Val Ile Tyr Ala Pro Ser Ser His Asn Lys Tyr Ala Gly Glu Ser
    690                 695                 700

Phe Pro Gly Ile Tyr Asp Ala Leu Phe Asp Ile Glu Ser Lys Val Asp
705                 710                 715                 720

Pro Ser Lys Ala Trp Gly Glu Val Lys Arg Gln Ile Tyr Val Ala Ala
                725                 730                 735

Phe Thr Val Gln Ala Ala Ala Glu Thr Leu Ser Glu Val Ala
            740                 745                 750
```

(2) ANGABEN ÜBER SEQ ID NR: 3:

(i) SEQUENZMERKMALE:
- (A) LÄNGE: 8 Aminosäuren
- (B) TYP: Aminosäure
- (C) STRÄNGIGKEIT: doppel
- (D) TOPOLOGIE: linear

SEQP

(ii) MOLEKÜLTYP: Peptid

(iii) HYPOTHETISCH: NEIN

(iv) ANTI-SENSE: NEIN

(vi) ORIGINALHERKUNFT:
(A) ORGANISMUS: Homo sapiens
(F) GEWEBETYP: Karzinom

(vii) UNMITTELBARE HERKUNFT :
(B) KLON: Prostataspezifisches Membranantigen

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NR:3:

Ser Leu Tyr Glu Ser Xaa Thr Lys
1 5

(2) ANGABEN ÜBER SEQ ID NR: 4:

(i) SEQUENZMERKMALE :
(A) LÄNGE: 15 Aminosäuren
(B) TYP: Aminosäure
(C) STRÄNGIGKEIT: doppel
(D) TOPOLOGIE: linear

(ii) MOLEKÜLTYP: Peptid

(iii) HYPOTHETISCH: NEIN

(iv) ANTI-SENSE: NEIN

(vi) ORIGINALHERKUNFT:
(A) ORGANISMUS: Homo sapiens
(B) GEWEBETYP: Karzinom

(vii) UNMITTELBARE HERKUNFT:
(B) KLON: Prostataspezifisches Membranantigen

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NR:4:

Xaa Tyr Pro Asp Gly Xaa Asn Leu Pro Gly Gly Xaa Val Gln Arg
1 5 10 15

(2) ANGABEN ÜBER SEQ ID NR: 5:

(i) SEQUENZMERKMALE:
(A) LÄNGE: 7 Aminosäuren
(B) TYP: Aminosäure
(C) STRÄNGIGKEIT: doppel
(D) TOPOLOGIE: linear

(ii) MOLEKÜLTYP: Peptid

(iii) HYPOTHETISCH: NEIN

(iv) ANTI-SENSE: NEIN

SEQP

(vi) ORIGINALHERKUNFT:
(A) ORGANISMUS: Homo sapien
(F) GEWEBETYP: Karzinom

(vii) UNMITTELBARE HERKUNFT:
(B) KLON: Prostataspezifisches Membranantigen

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NR:5:

Phe Tyr Asp Pro Met Phe Lys
1 5

(2) ANGABEN ÜBER SEQ ID NR: 6:

(i) SEQUENZMERKMALE :
(A) LÄNGE: 9 Aminosäuren
(B) TYP: Aminosäure
(C) STRÄNGIGKEIT: doppel
(D) TOPOLOGIE: linear

(ii) MOLEKÜLTYP: Protein

(iii) HYPOTHETISCH: NEIN

(iv) ANTI-SENSE: NEIN

(vi) ORIGINALHERKUNFT:
(A) ORGANISMUS: Homo sapien
(F) GEWEBETYP: Karzinom

(vii) UNMITTELBARE HERKUNFT:
(B) KLON: Prostataspezifisches Membrananitgen

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NR:6:

Ile Tyr Asn Val Ile Gly Thr Leu Lys
1 5

(2) ANGABEN ÜBER SEQ ID NR: 7:

(i) SEQUENZMERKMALE:
(A) LÄNGE: 22 Aminosäuren
(B) TYP: Aminosäure
(C) STRÄNGIGKEIT: doppel
(D) TOPOLOGIE: linear

(ii) MOLEKÜLTYP: Peptid

(iii) HYPOTHETISCH: NEIN

(iv) ANTI-SENSE: NEIN

(vi) ORIGINALHERKUNFT:
(A) ORGANISMUS: Homo sapien
(F) GEWEBETYP: Karzinom

(vii) UNMITTELBARE HERKUNFT:
(B) KLON: Prostataspezifisches Membranantigen

SEQP

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NR: 7:

Phe Leu Tyr Xaa Xaa Thr Gln Ile Pro His Leu Ala Gly Thr Glu Gln
1 5 10 15

Asn Phe Gln Leu Ala Lys
20

(2) ANGABEN ÜBER SEQ ID NR: 8:

(i) SEQUENZMERKMALE:
(A) LÄNGE: 17 Aminosäuren
(B) TYP: Aminosäure
(C) STRÄNGIGKEIT: doppel
(D) TOPOLOGIE: linear

(ii) MOLEKÜLTYP: Peptid

(iii) HYPOTHETISCH: NEIN

(iv) ANTI-SENSE: NEIN

(vi) ORIGINALHERKUNFT:
(A) ORGANISMUS: Homo sapien
(F) GEWEBETYP: Karzinom

(vii) UNMITTELBARE HERKUNFT:
(B) KLON: Prostataspezifisches Membranantigen

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NR: 8:

Gly Val Ile Leu Tyr Ser Asp Pro Ala Asp Tyr Phe Ala Pro Asp Val
1 5 10 15

Lys

(2) ANGABEN ÜBER SEQ ID NR: 9:

(i) SEQUENZMERKMALE:
(A) LÄNGE: 17 Aminosäuren
(B) TYP: Aminosäure
(C) STRÄNGIGKEIT: doppel
(D) TOPOLOGIE: linear

(ii) MOLEKÜLTYP: Peptid

(iii) HYPOTHETISCH: NEIN

(iv) ANTI-SENSE: NEIN

(vi) ORIGINALHERKUNFT:
(A) ORGANISMUS: Homo sapien
(F) GEWEBETYP: Karzinom

SEQP

(vii) UNMITTELBARE HERKUNFT:
(B) KLON: Prostataspezifisches Membranantigen

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NR: 9:

Pro Val Ile Leu Tyr Ser Asp Pro Ala Asp Tyr Phe Ala Pro Gly Val
1 5 10 15

Lys

(2) ANGABEN ÜBER SEQ ID NR: 10:

(i) SEQUENZMERKMALE:
(A) LÄNGE: 15 Aminosäuren
(B) TYP: Aminosäure
(C) STRÄNGIGKEIT: doppel
(D) TOPOLOGIE: linear

(ii) MOLEKÜLTYP: Peptid

(iii) HYPOTHETISCH: NEIN

(iv) ANTI-SENSE: NEIN

(vi) ORIGINALHERKUNFT:
(A) ORGANISMUS: Homo sapien
(F) GEWEBETYP: Karzinom

(vii) UNMITTELBARE HERKUNFT:
(B) KLON: Prostataspezifisches Membranantigen

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NR: 10:

Ala Phe Ile Asp Pro Leu Gly Leu Pro Asp Arg Pro Phe Tyr Arg
1 5 10 15

(2) ANGABEN ÜBER SEQ ID NR: 11:

(i) SEQUENZMERKMALE:
(A) LÄNGE: 19 Aminosäuren
(B) TYP: Aminosäure
(C) STRÄNGIGKEIT: doppel
(D) TOPOLOGIE: linear

(ii) MOLEKÜLTYP: Peptid

(iii) HYPOTHETISCH: NEIN

(iv) ANTI-SENSE: NEIN

(vi) ORIGINALHERKUNFT:
(A) ORGANISMUS: Homo sapien
(F) GEWEBETYP: Karzinom

(vii) UNMITTELBARE HERKUNFT:
(B) KLON: Prostataspezifisches Membranantigen

SEQP

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NR: 11:

Tyr Ala Gly Glu Ser Phe Pro Gly Ile Tyr Asp Ala Leu Phe Asp
Ile
1 5 10 15

Glu Ser Lys

(2) ANGABEN ÜBER SEQ ID NR: 12:

(i) SEQUENZMERKMALE:
(A) LÄNGE: 22 Aminosäuren
(B) TYP: Aminosäure
(C) STRÄNGIGKEIT: doppel
(D) TOPOLOGIE: linear

(ii) MOLEKÜLTYP: Peptid

(iii) HYPOTHETISCH: NEIN

(iv) ANTI-SENSE: NEIN

(vi) ORIGINALHERKUNFT:
(A) ORGANISMUS: Homo sapien
(F) GEWEBETYP: Karzinom

(vii) UNMITTELBARE HERKUNFT:
(B) KLON: Prostataspezifisches Membranantigen

(xi)SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NR: 12:

Thr Ile Leu Phe Ala Ser Xaa Asp Ala Glu Glu Phe Gly Xaa Xaa
Xaa
1 5 10 15

Ser Thr Glu Glu Ala Glu
20

(2) ANGABEN ÜBER SEQ ID NR: 13:

(i) SEQUENZMERKMALE:
(A) LÄNGE: 17 Basenpaare
(B) TYP: Nukleinsäure
(C) STRÄNGIGKEIT: doppel
(D) TOPOLOGIE: linear

(ii) MOLEKÜLTYP: cDNA

(iii) HYPOTHETISCH: NEIN

(iv) ANTI-SENSE: NEIN

(vi) ORIGINALHERKUNFT:
(A) ORGANISMUS: Homo sapien
(F) GEWEBETYP: Karzinom

SEQP

(vii) UNMITTELBARE HERKUNFT:
(B) KLON: Prostataspezifisches Membranantigen

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NR: 13:

TTYTAYGAYC CNATGTT
17

(2) ANGABEN ÜBER SEQ ID NR: 14:

(i) SEQUENZMERKMALE:
(A) LÄNGE: 17 Basenpaare
(B) TYP: Nukleinsäure
(C) STRÄNGIGKEIT: doppel
(D) TOPOLOGIE: linear

(ii) MOLEKÜLTYP: cDNA

(iii) HYPOTHETISCH: NEIN

(iv) ANTI-SENSE: NEIN

(vi) ORIGINALHERKUNFT:
(A) ORGANISMUS: Homo sapien
(F) GEWEBETYP: Karzinom

(vii) UNMITTELBARE HERKUNFT:
(B) KLON: Prostataspezifisches Membranantigen

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NR: 14:

AACATNGGRT CRTARAA
17

(2) ANGABEN ÜBER SEQ ID NR: 15:

(i) SEQUENZMERKMALE:
(A) LÄNGE: 17 Basenpaare
(B) TYP: Nukleinsäure
(C) STRÄNGIGKEIT: doppel
(D) TOPOLOGIE: linear

(ii) MOLEKÜLTYP: cDNA

(iii) HYPOTHETISCH: NEIN

(iv) ANTI-SENSE: NEIN

(vi) ORIGINALHERKUNFT:
(A) ORGANISMUS: Homo sapien
(F) GEWEBETYP: Karzinom

(vii) UNMITTELBARE HERKUNFT:
(B) KLON: Prostataspezifisches Membranantigen

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NR: 15:

ATHTAYAAYG TNATHGG

SEQP

17

(2) ANGABEN ÜBER SEQ ID NR: 16:

(i) SEQUENZMERKMALE:
(A) LÄNGE: 17 Basenpaare
(B) TYP: Nukleinsäure
(C) STRÄNGIGKEIT: doppel
(D) TOPOLOGIE: linear

(ii) MOLEKÜLTYP: cDNA

(iii) HYPOTHETISCH: NEIN

(iv) ANTI-SENSE: NEIN

(vi) ORIGINALHERKUNFT:
(A) ORGANISMUS: Homo sapien
(F) GEWEBETYP: Karzinom

(vii) UNMITTELBARE HERKUNFT:
(B) KLON: Prostataspezifisches Membranantigen

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NR:16:

CCDATNACRT TRTADAT

17

(2) ANGABEN ÜBER SEQ ID NR: 17:

(i) SEQUENZMERKMALE:
(A) LÄNGE: 17 Basenpaare
(B) TYP: Nukleinsäure
(C) STRÄNGIGKEIT: doppel
(D) TOPOLOGIE: linear

(ii) MOLEKÜLTYP: cDNA

(iii) HYPOTHETISCH: NEIN

(iv) ANTI-SENSE: NEIN

(vi) ORIGINALHERKUNFT:
(A) ORGANISMUS: Homo sapien
(F) GEWEBETYP: Karzinom

(vii) UNMITTELBARE HERKUNFT:
(B) KLON: Prostataspezifisches Membranantigen

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NR: 17:

CCNGCNGAYT AYTTYGC

17

(2) ANGABEN ÜBER SEQ ID NR: 18:

(i) SEQUENZMERKMALE:
(A) LÄNGE: 17 Basenpaare
(B) TYP: Nukleinsäure

SEQP

(C) STRÄNGIGKEIT: doppel
(D) TOPOLOGIE: linear

(ii) MOLEKÜLTYP: cDNA

(iii) HYPOTHETISCH: NEIN

(iv) ANTI-SENSE: NEIN

(vi) ORIGINALHERKUNFT:
(A) ORGANISMUS: Homo sapien
(F) GEWEBETYP: Karzinom

(vii) UNMITTELBARE HERKUNFT:
(B) KLON: Prostataspezifisches Membranantigen

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NR: 18:

GCRAARTART CNGCNGG
17

(2) ANGABEN ÜBER SEQ ID NR: 19:

(i) SEQUENZMERKMALE:
(A) LÄNGE: 20 Basenpaare
(B) TYP: Nukleinsäure
(C) STRÄNGIGKEIT: doppel
(D) TOPOLOGIE: linear

(ii) MOLEKÜLTYP: cDNA

(iii) HYPOTHETISCH: NEIN

(iv) ANTI-SENSE: NEIN

(vi) ORIGINALHERKUNFT:
(A) ORGANISMUS: Homo sapien
(F) GEWEBETYP: Karzinom

(vii) UNMITTELBARE HERKUNFT:
(B) KLON: Prostataspezifisches Membranantigen

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NR: 19:

ACNGARCARA AYTTYCARCT
20

(2) ANGABEN ÜBER SEQ ID NR: 20:

(i) SEQUENZMERKMALE:
(A) LÄNGE: 20 Basenpaare
(B) TYP: Nukleinsäure
(C) STRÄNGIGKEIT: doppel
(D) TOPOLOGIE: linear

(ii) MOLEKÜLTYP: cDNA

(iii) HYPOTHETISCH: NEIN

SEQP

(iv) ANTI-SENSE: NEIN

(vi) ORIGINALHERKUNFT:
(A) ORGANISMUS: Homo sapien
(F) GEWEBETYP: Karzinom

(vii) UNMITTELBARE HERKUNFT:
(B) KLON: Prostataspezifisches Membranantigen

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NR: 20:

AGYTGRAART TYTGYTCNGT
20

(2) ANGABEN ÜBER SEQ ID NR: 21:

(i) SEQUENZMERKMALE:
(A) LÄNGE: 17 Basenpaare
(B) TYP: Nukleinsäure
(C) STRÄNGIGKEIT: doppel
(D) TOPOLOGIE: linear

(ii) MOLEKÜLTYP: cDNA

(iii) HYPOTHETISCH: NEIN

(iv) ANTI-SENSE: NEIN

(vi) ORIGINALHERKUNFT:
(A) ORGANISMUS: Homo sapien
(F) GEWEBETYP: Karzinom

(vii) UNMITTELBARE HERKUNFT:
(B) KLON: Prostataspezifisches Membranantigen

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NR:21:

GARCARAAYT TYCARCT
17

(2) ANGABEN ÜBER SEQ ID NR: 22:

(i) SEQUENZMERKMALE:
(A) LÄNGE: 17 Basenpaare
(B) TYP: Nukleinsäure
(C) STRÄNGIGKEIT: doppel
(D) TOPOLOGIE: linear

(ii) MOLEKÜLTYP: cDNA

(iii) HYPOTHETISCH: NEIN

(iv) ANTI-SENSE: NEIN

(vi) ORIGINALHERKUNFT:
(A) ORGANISMUS: Homo sapien
(F) GEWEBETYP: Karzinom

(vii) UNMITTELBARE HERKUNFT:

(B) KLON: Prostataspezifisches Membranantigen

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NR: 22:

AGYTGRAART TYTGYTC
17

(2) ANGABEN ÜBER SEQ ID NR: 23:

(i) SEQUENZMERKMALE:
(A) LÄNGE: 20 Basenpaare
(B) TYP: Nukleinsäure
(C) STRÄNGIGKEIT: doppel
(D) TOPOLOGIE: linear

(ii) MOLEKÜLTYP: cDNA

(iii) HYPOTHETISCH: NEIN

(iv) ANTI-SENSE: NEIN

(vi) ORIGINALHERKUNFT:
(A) ORGANISMUS: Homo sapien
(F) GEWEBETYP: Karzinom

(vii) UNMITTELBARE HERKUNFT:
(B) KLON: Prostataspezifisches Membranantigen

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NR: 23:

TGGGAYGCNG ARGARTTYGG
20

(2) ANGABEN ÜBER SEQ ID NR: 24:

(i) SEQUENZMERKMALE:
(A) LÄNGE: 20 Basenpaare
(B) TYP: Nukleinsäure
(C) STRÄNGIGKEIT: doppel
(D) TOPOLOGIE: linear

(ii) MOLEKÜLTYP: cDNA

(iii) HYPOTHETISCH: NEIN

(iv) ANTI-SENSE: NEIN

(vi) ORIGINALHERKUNFT:
(A) ORGANISMUS: Homo sapien
(F) GEWEBETYP: Karzinom

(vii) UNMITTELBARE HERKUNFT:
(B) KLON: Prostataspezifisches Membranantigen

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NR: 24:

CCRAAYTCYT CNGCRTCCCA
20

SEQP

(2) ANGABEN ÜBER SEQ ID NR: 25:

(i) SEQUENZMERKMALE:
(A) LÄNGE: 17 Basenpaare
(B) TYP: Nukleinsäure
(C) STRÄNGIGKEIT: doppel
(D) TOPOLOGIE: linear

(ii) MOLEKÜLTYP: cDNA

(iii) HYPOTHETISCH: NEIN

(iv) ANTI-SENSE: NEIN

(vi) ORIGINALHERKUNFT:
(A) ORGANISMUS: Homo sapien
(F) GEWEBETYP: Karzinom

(vii) UNMITTELBARE HERKUNFT:
(B) KLON: Prostataspezifisches Membranantigen

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NR:25:

TGGGAYGCNG ARGARTT
17

(2) ANGABEN ÜBER SEQ ID NR: 26

(i) SEQUENZMERKMALE:
(A) LÄNGE: 17 Basenpaare
(B) TYP: Nukleinsäure
(C) STRÄNGIGKEIT: doppel
(D) TOPOLOGIE: linear

(ii) MOLEKÜLTYP: cDNA

(iii) HYPOTHETISCH: NEIN

(iv) ANTI-SENSE: NEIN

(vi) ORIGINALHERKUNFT:
(A) ORGANISMUS: Homo sapien
(F) GEWEBETYP: Karzinom

(vii) UNMITTELBARE HERKUNFT:
(B) KLON: Prostataspezifisches Membranantigen

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NR:26:

AAYTCYTCNG CRTCCCA
17

(2) ANGABEN ÜBER SEQ ID NR: 27:

(i) SEQUENZMERKMALE:
(A) LÄNGE: 780 Basenpaare
(B) TYP: Nukleinsäure
(C) STRÄNGIGKEIT: doppel

SEQP

(D) TOPOLOGIE: linear

(ii) MOLEKÜLTYP: cDNA

(iii) HYPOTHETISCH: NEIN

(iv) ANTI-SENSE: NEIN

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NR: 27:

TACACTTATC CCATTCGGAC ATGCCCACCT TGGAACTGGA GACCCTTACA CCCCAGGCTT
60

CCCTTCGTTC AACCACACCC ANNNGTTTCC ACCAGTTGAA TCTTCAGGAC TACCCCACAT
120

TGCTGTTCAG ACCATCTCTA GCAGTGCAGC AGCCAGGCTG TTCAGCAAAA TGGATGGAGA
180

CACATGCTCT GANAGNNGTT GGAAAGGTGC GATCCANNNT TCCTGTAAGG TNNGACNNAA
240

CAAAGCAGGA GANNNNGCCA GANTAATGGT GAAACTAGAT GTGAACAATT CCATGAAAGA
300

CAGGAAGATT CTGAACATCT TCGGTGCTAT CCAGGGATTT GAAGAACCTG ATCGGTATGT
360

TGTGATTGGA GCCCAGAGAG ACTCCTGGGG CCCAGGAGTG GCTAAAGCTG GCACTGGAAC
420

TGCTATATTG TTGGAACTTG CCCGTGTGAT CTCAGACATA GTGAAAAACG AGGGCTACAA
480

ACCGAGGCGA AGCATCATCT TTGCTAGCTG GAGTGCAGGA GACTACGGAG CTGTGGGTGC
540

TACTGAATGG CTGGAGGGGT ACTCTGCCAT GCTGCATGCC AAAGCTTTCA CTTACATCAN
600

NGCTTGGATG CTCCAGTCCT GGGAGCAAGC CATGTCAAGA TTTCTGCCAG CCCCTTGCTG
660

TATATGCTGC TGGGGAGTAT TATGAAGGGG GTGAAGAATC CAGCAGCAGT CTCAGAGAGC
720

NNNNCTCTAT AACAGACTTG GCCCAGACTG GGTAAAAGCA GTTGTTCCTC TTGGCCTGGA
780

(2) ANGABEN ÜBER SEQ ID NR: 28:

(i) SEQUENZMERKMALE:
(A) LÄNGE: 660 Basenpaare
(B) TYP: Nukleinsäure
(C) STRÄNGIGKEIT: doppel
(D) TOPOLOGIE: linear

(ii) MOLEKÜLTYP: cDNA

SEQP

(iii) HYPOTHETISCH: NEIN

(iv) ANTI-SENSE: NEIN

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NR: 28:

TGCAGAAAAG CTATTCAAAA ACATGGAAGG AAACTGTCCT CCTAGTTGGA ATATAGATTC
60

CTCATGTAAG CTGGAACTTT CACAGAATCA AAATGTGAAG CTCACTGTGA ACAATGTACT
120

GAAAGAAACA AGAATACTTA ACATCTTTGG CGTTATTAAA GGCTATGAGG AACCAGACCG
180

CTACATTGTA GTAGGAGCCC AGAGAGACGC TTGGGGCCCT GGTNGTTGCG AAGTCCAGTG
240

TGGGAACAGG TCTTNCTGTT GAAACTTGCC CAAGTATTCT CAGATATGAT TTCAAAAGAT
300

GGATTTAGAC CCAGCAGGAG TATTATCTTT GCCAGCTGGA CTGCAGGAGA CTATGGAGCT
360

GTTGGTCCGA CTGAGTGGCT GGAGGGGTAC CTTTCATCTT TGCATCTAAA GNNNGCTTTC
420

ACTTACATTA ATNCTGGATA AAGTCGTCCT GGGTACTAGC AACTTCAAGG TTTCTGCCAG
480

CCCCCTATTA TATACACTTA TGGGGAAGAT AATGCAGGAN NCGTAAAGCA TCCGANNNNN
540

NNNTTGATGG AAAATATCTA TATCGAAACA GTAATTGGAT TAGCAAAATT GAGGAACTTT
600

CCTTGGACAA TGCTGCATTC CCTTTTCTTG CATATTCAGG AATCCCAGCA GTTTCTTTCT
660

(2) ANGABEN ÜBER SEQ ID NR: 29:

(i) SEQUENZMERKMALE:
- (A) LÄNGE: 540 Basenpaare
- (B) TYP: Nukleinsäure
- (C) STRÄNGIGKEIT: doppel
- (D) TOPOLOGIE: linear

(ii) MOLEKÜLTYP: cDNA

(iii) HYPOTHETISCH: NEIN

(iv) ANTI-SENSE: NEIN

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NR: 29:

SEQP

TATGGAAGGA GACTGTCCCT CTGACTGGAA AACAGACTCT ACATGTAGGA TGGTAACCTC
60

AGAAAGCAAG AATGTGAAGC TCACTGTGAG CAATGTGCTG AAAGAGATAA AAATTCTTAA
120

CATCTTTGGA GTTATTAAAG GCTTTGTAGA ACCAGATCAC TATGTTGTAG TTGGGGCCCA
180

GAGAGATGCA TGGGGCCCTG GAGCTGCAAA ATCNCGGTGT AGGCACAGCT CTCCTATTGA
240

AACTTGCCCA GATGTTCTCA GATATGGTCT TAAAAGATGG GTTTCAGCCC AGCAGAAGCA
300

TTATCTTTGC CAGTTGGAGT GCTGGAGACT TTGGATCGGT TGGTGCCACT GAATGGCTAG
360

AGGGATACCT TTCGTCNCCT GCATTTAAAG GCTTTCACTT ATATTAATCT GGATAAAGCG
420

GTTCTTGGTA CCAGCAACTT CAAGGTTTCT GCCAGCCCAC TGTTGTATAC GCTTATTGAG
480

AAAACAATGC AAAATGTGAA GCATCCGGTT ACTGGGCAAT TTCTATATCA GGACAGCAAC
540

(2) ANGABEN ÜBER SEQ ID NR: 30:

(i) SEQUENZMERKMALE:
(A) LÄNGE: 27 Basenpaare
(B) TYP: Nukleinsäure
(C) STRÄNGIGKEIT: doppel
(D) TOPOLOGIE: linear

(ii) MOLEKÜLTYP: Peptid

(iii) HYPOTHETISCH: NEIN

(iv) ANTI-SENSE: NEIN

(vi) ORIGINALHERKUNFT:
(A) ORGANISMUS: Homo Sapien
(F) GEWEBETYP: Karzinom

(vii) UNMITTELBARE HERKUNFT:
(B) KLON: Prostataspezifisches Membranantigen

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NR: 30:

ACGGAGCAAA ACTTTCAGCT TGCAAAG
27

(2) ANGABEN ÜBER SEQ ID NR: 31:

(i) SEQUENZMERKMALE:
(A) LÄNGE: 9 Aminosäuren
(B) TYP: Aminosäure
(C) STRÄNGIGKEIT: doppel

SEQP

(D) TOPOLOGIE: linear

(ii) MOLEKÜLTYP: Peptid

(iii) HYPOTHETISCH: NEIN

(iv) ANTI-SENSE: NEIN

(vi) ORIGINALHERKUNFT:
(A) ORGANISMUS: Homo Sapien
(F) GEWEBETYP: Karzinom

(vii) UNMITTELBARE HERKUNFT:
(B) KLON: Prostatamembran-spezifisches Antigen

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NR: 31:

Thr Glu Gln Asn Phe Gln Leu Ala Lys
1 5

(2) ANGABEN ÜBER SEQ ID NR: 32:

(i) SEQUENZMERKMALE:
(A) LÄNGE: 36 Basenpaare
(B) TYP: Nukleinsäure
(C) STRÄNGIGKEIT: doppel
(D) TOPOLOGIE: linear

(ii) MOLEKÜLTYP: Peptid

(iii) HYPOTHETISCH: NEIN

(iv) ANTI-SENSE: NEIN

(vi) ORIGINALHERKUNFT:
(A) ORGANISMUS: Homo Sapien
(F) GEWEBETYP: Karzinom

(vii) UNMITTELBARE HERKUNFT:
(B) KLON: Prostataspezifisches Membranantigen

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NR: 32:

CTCTTCGGCA TCCCAGCTTG CAAACAAAAT TGTTCT
36

(2) ANGABEN ÜBER SEQ ID NR: 33:

(i) SEQUENZMERKMALE:
(A) LÄNGE: 36 Basenpaare
(B) TYP: Nukleinsäure
(C) STRÄNGIGKEIT: doppel
(D) TOPOLOGIE: linear

(ii) MOLEKÜLTYP: Peptid

(iii) HYPOTHETISCH: NEIN

(iv) ANTI-SENSE: NEIN

SEQP

(vi) ORIGINALHERKUNFT:
(A) ORGANISMUS: Homo Sapien
(F) GEWEBETYP: Karzinom

(vii) UNMITTELBARE HERKUNFT:
(B) KLON: Prostataspezifisches Membranantigen

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NR: 33:

AGAACAATTT TGTTTGCAAG CTGGGATGCC AAGGAG
36

(2) ANGABEN ÜBER SEQ ID NR: 34:

(i) SEQUENZMERKMALE:
(A) LÄNGE: 12 Aminosäuren
(B) TYP: Aminosäure
(C) STRÄNGIGKEIT: doppel
(D) TOPOLOGIE: linear

(ii) MOLEKÜLTYP: Peptid

(iii) HYPOTHETISCH: NEIN

(iv) ANTI-SENSE: NEIN

(vi) ORIGINALHERKUNFT:
(A) ORGANISMUS: Homo Sapien
(G) ZELLTYP: Karzinom

(vii) UNMITTELBARE HERKUNFT:
(B) KLON: Prostataspezifisches Membranantigen

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NR: 34:

Arg Thr Ile Leu Phe Ala Ser Trp Asp Ala Glu Glu
1 5 10

(2) ANGABEN ÜBER SEQ ID NR: 35:

(i) SEQUENZMERKMALE:
(A) LÄNGE: 6 Aminosäuren
(B) TYP: Aminosäure
(C) STRÄNGIGKEIT: doppel
(D) TOPOLOGIE: linear

(ii) MOLEKÜLTYP: Peptid

(iii) HYPOTHETISCH: NEIN

(iv) ANTI-SENSE: NEIN

(vi) ORIGINALHERKUNFT:
(A) ORGANISMUS: Homo Sapien
(G) ZELLTYP: Karzinom

(vii) UNMITTELBARE HERKUNFT:
(B) KLON: Prostataspezifisches Membranantigen

SEQP

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NR:35:

Asp Glu Leu Lys Ala Glu
1 5

(2) ANGABEN ÜBER SEQ ID NR: 36:

(i) SEQUENZMERKMALE:
(A) LÄNGE: 6 Aminosäuren
(B) TYP: Aminosäure
(C) STRÄNGIGKEIT: doppel
(D) TOPOLOGIE: linear

(ii) MOLEKÜLTYP: Peptid

(iii) HYPOTHETISCH: NEIN

(iv) ANTI-SENSE: NEIN

(vi) ORIGINALHERKUNFT:
(A) ORGANISMUS: Homo Sapien
(G) ZELLTYP: Karzinom

(vii) UNMITTELBARE HERKUNFT :
(B) KLON: Prostataspezifisches Membranantigen

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NR:36:

Asn Glu Asp Gly Asn Glu
1 5

(2) ANGABEN ÜBER SEQ ID NR: 37:

(i) SEQUENZMERKMALE:
(A) LÄNGE: 6 Aminosäuren
(B) TYP: Aminosäure
(C) STRÄNGIGKEIT: doppel
(D) TOPOLOGIE: linear

(ii) MOLEKÜLTYP: Peptid

(iii) HYPOTHETISCH: NEIN

(iv) ANTI-SENSE: NEIN

(vi) ORIGINALHERKUNFT:
(A) ORGANISMUS: Homo Sapien
(G) ZELLTYP: Karzinom

(vii) UNMITTELBARE HERKUNFT:
(B) KLON: Prostataspezifisches Membranantigen

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NR: 37:

Lys Ser Pro Asp Glu Gly
1 5

SEQP

(2) ANGABEN ÜBER SEQ ID NR: 38:

(i) SEQUENZMERKMALE:
(A) LÄNGE: 17 Aminosäuren
(B) TYP: Aminosäure
(C) STRÄNGIGKEIT: doppel
(D) TOPOLOGIE: linear

(ii) MOLEKÜLTYP: Peptid

(iii) HYPOTHETISCH: NEIN

(iv) ANTI-SENSE: NEIN

(vi) ORIGINALHERKUNFT:
(A) ORGANISMUS: Homo Sapien
(G) ZELLTYP: Karzinom

(vii) UNMITTELBARE HERKUNFT:
(B) KLON: Prostataspezifisches Membranantigen

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NR:38:

Ala Gly Ala Leu Val Leu Ala Gly Gly Phe Phe Leu Leu Gly Phe
Leu
1 5 10 15

Phe

(2) ANGABEN ÜBER SEQ ID NR: 39:

(i) SEQUENZMERKMALE:
(A) LÄNGE: 3017 Basenpaare
(B) TYP: Nukleinsäure
(C) STRÄNGIGKEIT: doppel
(D) TOPOLOGIE: linear

(ii) MOLEKÜLTYP: Peptid

(iii) HYPOTHETISCH: NEIN

(iv) ANTI-SENSE: NEIN

(vi) ORIGINALHERKUNFT:
(A) ORGANSIMUS: Homo Sapien
(F) GEWEBETYP: Karzinom

(vii) UNMITTELBARE HERKUNFT:
(B) KLON: Prostataspezifisches Membranantigen

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NR:39:

AAGGGTGCTC CTTAGGCTGA ATGCTTGCAG ACAGGATGCT TGGTTACAGA TGGGCTGTGA
60

CTCGAGTGGA GTTTTATAAG GGTGCTCCTT AGGCTGAATG CTTGCAGACA GGATGCTTGG
120

SEQP

TTACAGATGG GCTGTGAGCT GGGTGCTTGT AAGAGGATGC TTGGGTGCTA AGTGAGCCAT
180

TTGCAGTTGA CCCTATTCTT GGAACATTCA TTCCCCTCTA CCCCTGTTTC TGTTCCTGCC
240

AGCTAAGCCC ATTTTTCATT TTTCTTTTAA CTCCTTAGCG CTCCGCAAAA CTTAATCAAT
300

TTCTTTAAAC CTCAGTTTTC TTATCTGTAA AAGGTAAATA ATAATACAGG GTGCAACAGA
360

AAAATCTAGT GTGGTTTACA TAATCACCTG TTAGAGATTT TAAATTATTT CAGGATAAGT
420

CATGATAATT AAATGAAATA ATGCACATAA AGCACATAGT GTGGTGTCCT CCATATAGAA
480

AATGCTCAGT ATATTGGTTA TTAACTACTT GTTGAAGGTT TATCTTCTCC ACTAAACTGT
540

AAGTTCCACA AGCCTTACAA TATGTGACAG ATATTCATTC ATTGTCTGAA TTCTTCAAAT
600

ACATCCTCTT CACCATAGCG TCTTATTAAT TGAATTATTA ATTGAATAAA TTCTATTGTT
660

CAAAAATCAC TTTTATATTT AACTGAAATT TGCTTACTTA TAATCACATC TAACCTTCAA
720

AGAAAACACA TTAACCAACT GTACTGGGTA ATGTTACTGG GTGATCCCAC GTTTTACAAA
780

TGAGAAGATA TATTCTGGTA AGTTGAATAC TTAGCACCCA GGGGTAATCA GCTTGGACAG
840

GACCAGGTCC AAAGACTGTT AAGAGTCTTC TGACTCCAAA CTCAGTGCTC CCTCCAGTGC
900

CACAAGCAAA CTCCATAAAG GTATCCTGTG CTGAATAGAG ACTGTAGAGT GGTACAAAGT
960

AAGACAGACA TTATATTAAG TCTTAGCTTT GTGACTTCGA ATGACTTACC TAATCTAGCT
1020

AAATTTCAGT TTTACCATGT GTAAATCAGG AAGAGTAATA GAACAAACCT TGAAGGGTCC
1080

CAATGGTGAT TAAATGAGGT GATGTACATA ACATGCATCA CTCATAATAA GTGCTCTTTA
1140

AATATTAGTC ACTATTATTA GCCATCTCTG ATTAGATTTG ACAATAGGAA CATTAGGAAA
1200

GATATAGTAC ATTCAGGATT TTGTTAGAAA GAGATGAAGA AATTCCCTTC CTTCCTGCCC
1260

TAGGTCATCT AGGAGTTGTC ATGGTTCATT GTTGACAAAT TAATTTTCCC AAATTTTTCA
1320

CTTTGCTCAG AAAGTCTACA TCGAAGCACC CAAGACTGTA CAATCTAGTC CATCTTTTTC

SEQP

1380

CACTTAACTC ATACTGTGCT CTCCCTTTCT CAAAGCAAAC TGTTTGCTAT TCCTTGAATA
1440

CACTCTGAGT TTTCTGCCTT TGCCTACTCA GCTGGCCCAT GGCCCCTAAT GTTTCTTCTC
1500

ATCTCCACTG GGTCAAATCC TACCTGTACC TTATGGTTCT GTTAAAAGCA GTGCTTCCAT
1560

AAAGTACTCC TAGCAAATGC ACGGCCTCTC TCACGGATTA TAAGAACACA GTTTATTTTA
1620

TAAAGCATGT AGCTATTCTC TCCCTCGAAA TACGATTATT ATTATTAAGA ATTTATAGCA
1680

GGGATATAAT TTTGTATGAT GATTCTTCTG GTTAATCCAA CCAAGATTGA TTTTATATCT
1740

ATTACGTAAG ACAGTAGCCA GACATAGCCG GGATATGAAA ATAAAGTCTC TGCCTTCAAC
1800

AAGTTCCAGT ATTCTTTTCT TTCCTCCCCT CCCCTCCCCT CCCTTCCCCT CCCCTTCCTT
1860

CCCTTTCCCT TCCCTTCCTT TCTTTCTTGA GGGAGTCTCA CTCTGTCACC AGGCTCCAGT
1920

GCAGTGGCGC TATCTTGGCT GACTGCAACC TCCGCCTCCC CGGTTCAAGC GATTCTCCTG
1980

CCTCAGCCTC CTGAGTAGCT GGGACTACAG GAGCCCGCCA CCACGCCCAG CTAATTTTTG
2040

TATTTTTAGT AGAGATGGGG TTTCACCATG TTGGCCAGGA TGGTCTCGAT TTCTCGACTT
2100

CGTGATCCGC CTGTCTGGGC CTCCCAAAGT GCTGGGATTA CAGGCGTGAG CCACCACGCC
2160

CGGCTTTAAA AAATGGTTTT GTAATGTAAG TGGAGGATAA TACCCTACAT GTTTATTAAT
2220

AACAATAATA TTCTTTAGGA AAAAGGGCGC GGTGGTGATT TACACTGATG ACAAGCATTC
2280

CCGACTATGG AAAAAAAGCG CAGCTTTTTC TGCTCTGCTT TTATTCAGTA GAGTATTGTA
2340

GAGATTGTAT AGAATTTCAG AGTTGAATAA AAGTTCCTCA TAATTATAGG AGTGGAGAGA
2400

GGAGAGTCTC TTTCTTCCTT TCATTTTTAT ATTTAAGCAA GAGCTGGACA TTTTCCAAGA
2460

AAGTTTTTTT TTTTTAAGGC GCCTCTCAAA AGGGGCCGGA TTTCCTTCTC CTGGAGGCAG
2520

ATGTTGCCTC TCTCTCTCGC TCGGATTGGT TCAGTGCACT CTAGAAACAC TGCTGTGGTG
2580

SEQP

GAGAAACTGG ACCCCAGGTC TGGAGCGAAT TCCAGCCTGC AGGGCTGATA AGCGAGGCAT
2640

TAGTGAGATT GAGAGAGACT TTACCCCGCC GTGGTGGTTG GAGGGCGCGC AGTAGAGCAG
2700

CAGCACAGGC GCGGGTCCCG GGAGGCCGGC TCTGCTCGCG CCGAGATGTG GAATCTCCTT
2760

CACGAAACCG ACTCGGCTGT GGCCACCGCG CGCCGCCCGC GCTGGCTGTG CGCTGGGGCG
2820

CTGGTGCTGG CGGGTGGCTT CTTTCTCCTC GGCTTCCTCT TCGGTAGGGG GGCGCCTCGC
2880

GGAGCAAACC TCGGAGTCTT CCCCGTGGTG CCGCGGTGCT GGGACTCGCG GGTCAGCTGC
2940

CGAGTGGGAT CCTGTTGCTG GTCTTCCCCA GGGGCGGCGA TTAGGGTCGG GGTAATGTGG
3000

GGTGAGCACC CCTCGAG
3017

(2) ANGABEN ÜBER SEQ ID NR: 40:

(i) SEQUENZMERKMALE:
(A) LÄNGE: 776 Basenpaare
(B) TYP: Nukleinsäure
(C) STRÄNGIGKEIT: doppel
(D) TOPOLOGIE: linear

(ii) MOLEKÜLTYP: Peptid

(iii) HYPOTHETISCH: NEIN

(iv) ANTI-SENSE: NEIN

(vi) ORIGINALHERKUNFT:
(A) ORGANISMUS: Homo Sapien
(F) GEWEBETYP: Karzinom

(vii) UNMITTELBARE HERKUNFT:
(B) KLON: Prostataspezifisches Membranantigen

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NR: 40:

TTTGCAGACT TGACCAACTT TCTAAGAAAA GCAGAACCAC ACAGGCAAGC TCAGACTCTT
60

TTATTAAATT CCAGTTTTGA CTTTGCCACT TCTTAGTGGC CTTGAACAAG TTACCGAGTC
120

CTCTCAGCGT TAGTTACCCT ATTTTAATGA TGAGGATAAT ATTATCTGCC CAAATTATTG
180

GTATAGTAAA TATATAGCAT GTAAATCTCC TAGCAGAGTA CTGGGATTTC GCCACTTTAT
240

SEQP

TTCTTCTTTA CCAAGATACT CCTATTGGAC TTAATACACA GGACTAGTCT AAGGTATCAC
300

CAGGTAGTCC ACTCCTGCTC GGAATCTGAC CCGGGATTAG AGTAGGGCAT GGACCAGATG
360

GGTTTAAACA AATTCAATAT CTTCCACTAG CTTCACCTTG GGGTTGTAAA AGTTTTTGAA
420

CCACACACTG TGCTCATAAC AATCTTCATC TCTTAAAAGG ATTTTATTCT TCCTGGTATC
480

CTCACTCTCA TCCCTTGTAT TCCGTGCTCA GTGGCTGACA CAGAAGAGTT CTTTATNNNN
540

NNNNNNNNNN CATCCTGTTC ATTTTTCAGA TCTCAGTTCA AGCATCTCGT CCTCAGTGTG
600

GTGTTNNCTG ATCCCTCACT CTAATCCAAG TCTTTCTGTT TTATGCACAG GTTGGAATCT
660

TATTTCCGTT TGCGNNCCAA TCNAATNGTA TTTAATATGC ATGTATATAT GTATGTGCAT
720

TTGTATGCTA NGCGATTAAG AACTAGAATA ATTAATAATT GGAAGTCTAG AAGTGG
776

(2) ANGABEN ÜBER SEQ ID NR: 41:

(i) SEQUENZMERKMALE:
(A) LÄNGE: 1310 Basenpaare
(B) TYP: Nukleinsäure
(C) STRÄNGIGKEIT: doppel
(D) TOPOLOGIE: linear

(ii) MOLEKÜLTYP: Peptid

(iii) HYPOTHETISCH: NEIN

(iv) ANTI-SENSE: NEIN

(vi) ORIGINALHERKUNFT:
(A) ORGANISMUS: Homo Sapien
(F) GEWEBETYP: Karzinom

(vii) UNMITTELBARE HERKUNFT:
(B) KLON: Prostataspezifisches Membranantigen

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NR: 41:

TGAAAAATAC ATCAAAAATA GGCATGAGAT ACGAGCCTAT AGATAGGACT TATTTTTTAT
60

TATTGTTGTA TGTATTATTT GTAAAACACA AATTATCAAT ATTACCTCTG ACATTAGGTG
120

AGATATTCTG AATTTTAATT TCTCTTGCCT ACTTTCACTG AAAAAGAGTC ATGCAAACAG
180

SEQP

ATTTTTAAGT TGCAAACCAA TTGCAAAATA TTTTTTTATC CAACTTCAAT GATAGGTATT
240

GCTGTTAATT CTAAGATATG CATTAATTGT TTCAACTAAT GGGTGTCAAA CGAGATGTTC
300

TGAAAATGAA GGCAAAAAGG AGATCCACCT TCTACTTTCA TAAAGTTTCT ATCTTCCTCT
360

GCTGACTCAA ATAAGCATTT AATACATTTT ATAACGAATT AATTATGAAT ATATTTCAAA
420

TAAATAAATT ATTTCCAAGT GTTGAAGGAA ATTCAGACTT CTAATTTGCT CTGATTCTGA
480

AACTAAAACA AATGCTCTGT GAGAGTTTGC GTTTCCAGTG AAGTAGCGTG AGAAATCCAA
540

GTCAGACAGC TACATGAAAC TACATTTACC AGCTCTCTGC CAGACACCAG TGCACGATAG
600

CGCAGAACAT GTAGCTAGAT CTCAGTCATA GCTNNNNNNN NNNNNNNNNN AGACCTTGCA
660

GTTGGCTTTT AACCTGAAGG AGATAAGGCA AGATTCCAGG GTTTATTTAG AGAAATTACA
720

GGATCTGGGA ATAAAGTAGT TACAAAATTA GTCCCCAACC AGCTTTCATG GAGCTTTCAA
780

TTATTAATTA TTCTAGTTCT TAATCGCATG CATACAATGC ACATACATAT ATACATGCAT
840

ATTAAAATAC ATGATTGGAC GCAAACGGAA ATAAGATTCC ACCTGTGCAT AAAACAGAAA
900

GACTTGGTTA GAGTGAGGGA TCAGGAAACA CCACACTGAG GACGAGATGN NNNNNNNNNN
960

NTAGTGGGTG GGGGGCGGAC ATCAATAAAG AACTCTTCTG TGTCAGCCAC TGAGCACGGA
1020

ATAAAGGGAT GAGAGTGAGG GCAANTACCA GAAGAATAAA ATCCTTTTAA GAGATGAAGA
1080

TTGTTATGAG CACAGTGTGT GGNTTCAAAA ATCTTTTAAC AACCCCAAGG TGAAGCTAGT
1140

TGGAAGATAT TTGAATTTGT TTAAACCCAT CTGGTCCTAG CCCTATTCTT TGAATCCGAA
1200

GAGGTCAAGA ATTCCGAGCA GAGTGGACTA CCTGTGATAC CTTAGACTAG TCCTGTGTAT
1260

TCAAGTCCAA TGAGAGTATC TGTAAGAGAA TAAGTGCGAA ATCCAGATCT
1310

(2) ANGABEN ÜBER SEQ ID NR: 42:

SEQP

(i) SEQUENZMERKMALE:
(A) LÄNGE: 789 Basenpaare
(B) TYP: Nukleinsäure
(C) STRÄNGIGKEIT: doppel
(D) TOPOLOGIE: linear

(ii) MOLEKÜLTYP: Peptid

(iii) HYPOTHETISCH: NEIN

(iv) ANTI-SENSE: NEIN

(vi) ORIGINALHERKUNFT:
(A) ORGANISMUS: Homo Sapien
(F) GEWEBETYP: Karzinom

(vii) UNMITTELBARE HERKUNFT:
(B) KLON: Prostataspezifisches Membranantigen

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NR: 42:

GGATTCTGTT GAGCCCTAGC TCATTATGAT GTCCTGTTGT CCTACCCAAA TAAGACTCAT
60

CCCAACTACA TCTCAATAAT TAATGAAGAT GGAAATGAGG TAAAAAATAA ATAAATAAAT
120

AAAAGAAACA TTCCCCCCCA TTTATTATTT TTTCAAATAC CTTCTATGAA ATAATGTTCT
180

ATCCCTCTCT AAATATTAAT AGAAATCAAT ATTATTGGAA CTGTGAATAC CTTTAATATC
240

TCATTATCCG GTGTCAACTA CTTTCCTATG ATGTTGAGTT ACTGGGTTTA GAAGTCGGGA
300

AATAATGCTG TAAANNNNNN AGTTAGTCTA CACACCAATA TCAAATATGA TATACTTGTA
360

AACCTCCAAG CATAAAAAGA GATACTTTAT AAAAGAGGTT CTTTTTTTCT TTTTTTTTTT
420

TCCAGATGGA GTTTCACTCC TGTCAGGCAG GCNGAGTGCA GTGGTGCCAT CTCGGCTCAC
480

TGCAACCTCC ACCTCCCATG TTCAAGGGAT TCTCCTTCCT CAGTCTCCTG AGTAGCTGGG
540

ATTACAGGTG TGCACCACCA CACCCAGCTA ATTTTTGTAT TTTTAATAGA GACAGGGTTT
600

CGATCGATGT TGGCCAGGCT AGTCTCGAAC TCCTGACCTC TAGGTGATCC ACCCGCTCAG
660

CTCCCAAAGT TGTAGAATTA CACGTGTGAG GCACTGCGCC TTGCCAGGAG ATACATTTTT
720

GATAGGTTTA ATTTATAAAG ACACTGCACA GATTTGAGTT GCTGGGAAAT GCACGGATTC
780

SEQP

CAGTATGCA
789

(2) ANGABEN ÜBER SEQ ID NR: 43:

(i) SEQUENZMERKMALE:
(A) LÄNGE: 368 Basenpaare
(B) TYP: Nukleinsäure
(C) STRÄNGIGKEIT: doppel
(D) TOPOLOGIE: linear

(ii) MOLEKÜLTYP: Peptid

(iii) HYPOTHETISCH: NEIN

(iv) ANTI-SENSE: NEIN

(vi) ORIGINALHERKUNFT:
(A) ORGANISMUS: Homo Sapien
(F) GEWEBETYP: Karzinom

(vii) UNMITTELBARE HERKUNFT:
(B) KLON: Prostataspezifisches Membranantigen

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NR: 43:

AATCAAAATA AAACAGTTAA AGTTTGATTA CTATAATCAA ACACAAAAAA AATGAATATT
60

ATCTTTTATG TCAGTAGAGG GTGAATGAAT CCTTCAGGAT TTTGATGATA GTATCAGATA
120

CCCAGCACTA TGCTAGAAGT TGTGAAGAAT TCACGAGATG AATAAATCAC AGATTCTGTC
180

CTCAAAATGG TTAGATCTAT TCAGGAAACA AAGCTAAAAA AACCCCACCA ATAACTAAAA
240

ATCAACCAAA TGAAAAACAA CAATCATAAA ATAAGTAAGT ACCTATAGAA AGAAAAGCTC
300

AGAGGAGGTA AAAAGAATCT CCTTAAAAGG AATACTATAT ACTGTAAAAC TGTGACTGAT
360

AGAAGGAA
368

(2) ANGABEN ÜBER SEQ ID NR: 44:

(i) SEQUENZMERKMALE:
(A) LÄNGE: 877 Basenpaare
(B) TYP: Nukleinsäure
(C) STRÄNGIGKEIT: doppel
(D) TOPOLOGIE: linear

(ii) MOLEKÜLTYP: Peptid

(iii) HYPOTHETISCH: NEIN

SEQP

(iv) ANTI-SENSE: NEIN

(vi) ORIGINALHERKUNFT:
(A) ORGANISMUS: Homo Sapien
(F) GEWEBETYP: Karzinom

(vii) UNMITTELBARE HERKUNFT:
(B) KLON: Prostataspezifisches Membranantigen

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NR: 44:

TATGGGAAAG TTTTCAGAGG AAATAAGGTA AGGGAAAAGT TATCTCTTTT TTTCTCTCCC
60

CCAATGTAAA AAGTTATAGT GGGTTTTACA TGTGTAGAAT CATTTTCTTA AAACTTTATG
120

AATACCATTA TTTTCTTGTA TTCTGTGACA TGCCACCTTA CAGAGAGGAC ACATTTACTA
180

GGTTATATCC CGGGGTTAAA TTCGAGCATT GGAATTTGGC CAGTGTAGAT GTTTAGAGTG
240

AACAGAACAA TTTTTCTGTG CTTACAGGTT ATGGCTGTGG CGTACAAGAA GCATGCACTG
300

GGTTTATTAT TAACTTTCAG TATCTTTGTT TTAAATATTT TCTACAAAAA TGTTTACTAA
360

ATTAAATTGT AGTATGAATT GTTATAAATA ATGAGGGAAA CATTTACACA TAGCAAATTT
420

AAAAATTACT GTCATTTGAT TTGTTAATAT ATTTTTCTCT TTAGTGGGAA ATTAAATTAA
480

AAAATTCCTT TCGACTGTCA GACAATAGGA TTGCTGTGGT CTACTTGCTT ATTATATTTG
540

TAGAGTCTAG AATGCAATCT CACTACACTA TAGACATCTC ANNCTAACGT AGGACAATTC
600

TGAGAAACTA TTCCAGACCT CCTTATGGGC TTAGCCAAGG NTATCCTTCA GCTGGCATTG
660

CAGGGTGACT TCTNCCTCNN AATCCAGCTC TCTNTCACAG ATGTGATCCA AGAGACACTC
720

ACAATTAATC AACTAGCATT CTAAATTTCA ATTCCAGATC TATTACCTTA ATATGGTAGC
780

TGAAGCTTTN NTCACTGTCA ATTCTGATCA GATATATGAC AATTTTAAAT TATTTGCAGT
840

GTGTAAGAAA CGCTTCAGGT AGTTTAAATT TAAGGCT
877

(2) ANGABEN ÜBER SEQ ID NR: 45:

SEQP

(i) SEQUENZMERKMALE:
(A) LÄNGE: 893 Basenpaare
(B) TYP: Nukleinsäure
(C) STRÄNGIGKEIT: doppel
(D) TOPOLOGIE: linear

(ii) MOLEKÜLTYP: Peptid

(iii) HYPOTHETISCH: NEIN

(iv) ANTI-SENSE: NEIN

(vi) ORIGINALHERKUNFT:
(A) ORGANISMUS: Homo Sapien
(F) GEWEBETYP: Karzinom

(vii) UNMITTELBARE HERKUNFT:
(B) KLON: Prostataspezifisches Membranantigen

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NR: 45:

CTCCTTTGGC CCCTGCCAGC TGGGCATTTT TAACCTAGTT TACACAGTGT CTTTTTTTCC
60

TTATTTTAAA TTGGTTGTTC CAGATTCGGT AATATCAATT TTTAATATTA CACTTAAATG
120

AGTACCAGAA CTTTATCTTC AACCTTTTTC TCATTAGGCC TACAACATAG GACATCTCGG
180

ATAGAATTTC CTTTTCTTTT TGCTACTATA AGCTGCTAAA ATCCTCAGAA CATCAGATTT
240

AGAAATGTTC TTATTAGTGG TAGTGAGCAT TTGCTATTTC CTACCACTAG CTTACAAATA
300

TAATAAGCAA GTAGACCCCA CAGGCCAAAT TCCTATTTGT TCTACAGTCG AAAGGGAATT
360

TTTTAAAATT TAATTTCCAC TAAAGAGAAA AATATATTAA CAATCAAATT GACAGTCGAT
420

TTTAATTGCT ATGTGTAATT GTTTTCCCTC ATTATTTATA ACAATTCATA CTACAATTTA
480

ATTTAGTAAA CATTTTTGTA GACCATATTT AAAACAAAGA TACTGAAAGT TAATATAAAC
540

CCAGTGCATG CTCTCTGTAG GCCACAGCCA TAACCTGTAA GCACAGAAAA ATTTGTTCTG
600

TTACTCTAAA CATCTACACT GGCCAAATTC CAATGCTCGA ATTTAACCCC GGGATATAAC
660

CTAGTAAATG TGTCCTCTCT GTCAAGGTGG GCATGTCACA GAATACAGAA CAATCAATGG
720

TATTCATAAA GTTTTAAGAA AATGATTCTA CACATGTAAA ACCCACTATA ACTTTTTACA
780

SEQP

TTGGGGGAGA GAAAAAAAGA GATAATTTTT ACCTTACCTT ATTTCCTCTG AAAACTTTCC
840

CATATCTGGC AATTACAATT TTCCCAGAGC AATTGATTTT CATGTCCCGT TCC
893

(2) ANGABEN ÜBER SEQ ID NR: 46:

(i) SEQUENZMERKMALE:
(A) LÄNGE: 1105 Basenpaare
(B) TYP: Nukleinsäure.
(C) STRÄNGIGKEIT: doppel
(D) TOPOLOGIE: linear

(ii) MOLEKÜLTYP: Peptid

(iii) HYPOTHETISCH: NEIN

(iv) ANTI-SENSE: NEIN

(vi) ORIGINALHERKUNFT:
(A) ORGANISMUS: Homo Sapien
(F) GEWEBETYP: Karzinom

(vii) UNMITTELBARE HERKUNFT:
(B) KLON: Prostataspezifisches Membranantigen

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG:SEQ ID NR: 46:

GATGCTATTT GGGCAATTTC TTATTGACAG TTTTGAAATG TTAGGCTTTT ATCTCCATTT
60

TTTAGTACTT AAATTTTCCA ACATGGGTGT TGCTTGTTAT TTTATCAGTA TAAAATAGAA
120

GAGTGGTTCT GTTCTGGAAT TTAGTATATA CATGAGTATC TAGTGTATGT CAGCCATGAA
180

AATGAACCTT TCAGATGTTT AACTTCAGGG AACCTAATTG AGTCATTGCT CCAGACATTG
240

TTGCTTTGAA CCCACTATAT TNNNNNNNCT CGGGCAATGA CTCAGTGTGG CAAGGATACT
300

ACTGCAGGCC TGTTTCTGGA AGGCACTGGA CTCCTCTGAT GCAAACTTTG GCCAGGGACT
360

CCTTGATAGC TCTTAAATAG ATGCTGCACC AACACTCTCT TTCTTTTCTC TCTTTTTCTT
420

TATTCAATAT TAGACTACAA GCAGTCTAAG GACTTCTCAG GGTTTCTAGC TCTCTCTCAT
480

TTCACACATG CTTTCCTAGT AATCTCTACT CATATATCTT ACTGCTACGC TGGGGCCAGA
540

TAACNNNNNN CTTCCATTTT GTTTTTATCT CTATTCTTCT TCCCCTTCTG CTTTCATTAT
600

SEQP

TGAAACTTTC TGCTTTCATT ATTGAAACTT TCCCAGATTT GTTCTGCTTA ACCTGGCATT
660

GGAACTGTTT CCTCTTCCCT GTGCTGCTTT CTCCCATTGC CATGTCCTTT TTTTTTTTTT
720

TTTTTTTTTT TGAGACAGTG TCACTCTGTT GCCCAGGCTG GAGTGCAATG GTGCAATCTT
780

GGCCACTGCA ACCCCGACTC CGGGTTCAAG TGATTCTCTA CCTGCCTCAG CCTCCTGAGT
840

AGCTGGGATT ACAGGTGCCA CCACTATGCC GGCTGATTTT GTATTTTAGT AGAGATGGGT
900

TCACATGCAG ATCAGCTGTT CCGACTCTGA CCAGNNNNNN NNNNNNNNNN ATCAAAGTCA
960

GCCAAAGTGC TAGGCTTAGA GTAATTGTGT AATTTCCACA CAAGTGCAAC CTAGTGTAAT
1020

GCCTCAAGAA TGTNNNTATG AATGTCTCGA ACGTTAGTAA CTAATAACAA GTAGTTAGTT
1080

TATAGATGTA TCCTAGTATG TAGCA
1105

(2) ANGABEN ÜBER SEQ ID NR: 47:

(i) SEQUENZMERKMALE:
(A) LÄNGE: 930 Basenpaare
(B) TYP: Nukleinsäure
(C) STRÄNGIGKEIT: doppel
(D) TOPOLOGIE: linear

(ii) MOLEKÜLTYP: Peptid

(iii) HYPOTHETISCH: NEIN

(iv) ANTI-SENSE: NEIN

(vi) ORIGINALHERKUNFT:
(A) ORGANISMUS:Homo Sapien
(F) GEWEBETYP: Karzinom

(vii) UNMITTELBARE HERKUNFT:
(B) KLON:Prostataspezifisches Membranantigen

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NR: 47:

CACAAAAAAA GATTATTAGC CACAAAAAAA CCTTGAAGTA ACGCATTAAA ATGTTAATGG
60

ATTCACTTTA TTGAGCATCT GCTCATAATA CTTTAATGAG TGCAAAGTGC TTTGAATATA
120

ATACGTCATT TAAACCTTAC CATAATTCTG AGGAATTGCT ACCTCCACTT CACAGATGGG
180

SEQP

GCACAGGAGG CTTAGATAAC ATGCCCAAAG TCATGCTTCT AGTAAATGGA TATAATTAAG
240

ATTCAAATTA TTGATAAGAA TTTGATCTGC CTTACCAGTA TCTAGTAGTA AATCTAAAAG
300

CGCTTTCCAG AGCATGTGCT GTTGATAGAG CTTGATGTCT AACTCTCTGA AATTTTCCAT
360

TCTTATTTGT CTCACTGGTA TATAGTTATT TTTTACTACT TTCATACACC TACTAAGAAG
420

ACAGGAGGAT CAAAGATAGG ATTTCATTTA GAATGCCTAA AGCTTCACGT ATTTTAATTC
480

AGAATAAGAT TCAGGCAGAC CACCAGTATA TGCCATGGTC CCTGGTTATC TTTCAGCAGG
540

TGACCGAGAA AGAAAACATG GTAATGTTTA TGAAATGGTG GGTTCTTGTA GTTTCACTTC
600

AACATATCTG CCTTTACTGT ATTAAGATGA TGGATTAACT TATTCTTGAT ATGGGCATGT
660

AAAACAATAT ACTTTTACTA AACAGCTACA GAGAGACAAA TGTGTTTCCA GACAAACTTA
720

AGAGACTGAG TGTTCAAACT GAATAATCTC GACCTTAATT GTAACTATAT TTTATGAAAT
780

CCAGCTGTAA GGCAAAACAG ACTCTTGGCT ACACGGCATT TGTCTGTTAA TGATACTCAA
840

CCTTAACCGT CACTTAATAA TGCTGAATAA TGTCATTAAT CTGAGATGTT AGTATGATCA
900

ATGGGAATCA CTGCTGAGCT CTCGAAGCCC
930

(2) ANGABEN ÜBER SEQ ID NR: 48:

(i) SEQUENZMERKMALE:
(A) LÄNGE: 2957 Basenpaare
(B) TYP: Nukleinsäure
(C) STRÄNGIGKEIT: doppel
(D) TOPOLOGIE: linear

(ii) MOLEKÜLTYP: Peptid

(iii) HYPOTHETISCH: NEIN

(iv) ANTI-SENSE: NEIN

(vi) ORIGINALHERKUNFT:
(A) ORGANISMUS: Homo Sapien
(F) GEWEBETYP: Karzinom

(vii) UNMITTELBARE HERKUNFT:
(B) KLON: Prostataspezifisches Membranantigen

SEQP

(x1) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NR: 48:

CTCGAGGGGT GCTCACCCCA CATTACCCCG ACCCTAATCG CCGCCCCTGG GGAAGACCAG
60

CAACAGGATC CCACTCGGCA GCTGACCCGC GAGTCCCAGC ACCGCGGCAC CACGGGGAAG
120

ACTCCGAGGT TTGCTCCGCG AGGCGCCCCC CTACCGAAGA GGAAGCCGAG GAGAAAGAAG
180

CCACCCGCCA GCACCAGCGC CCCAGCGCAC AGCCAGCGCG GGCGGCGCGC GGTGGCCACA
240

GCCGAGTCGG TTTCGTGAAG GAGATTCCAC ATCTCGGCGC GAGCAGAGCC GGCCTCCCGG
300

GACCCGCGCC TGTGCTGCTG CTCTACTGCG CGCCCTCCAA CCACCACGGC GGGGTAAAGT
360

CTCTCTCAAT CTCACTAATG CCTCGCTTAT CAGCCCTGCA GGCTGGAATT CGCTCCAGAC
420

CTGGGGTCCA GTTTCTCCAC CACAGCAGTG TTTCTAGAGT GCACTGAACC AATCCGAGCG
480

AGAGAGAGAG GCAACATCTG CCTCCAGGAG AAGGAAATCC GGCCCCTTTT GAGAGGCGCC
540

TTAAAAAAAA AAAACTTTCT TGGAAAATGT CCAGCTCTTG CTTAAATATA AAAATGAAAG
600

GAAGAAAGAG ACTCTCCTCT CTCCACTCCT ATAATTATGA GGAACTTTTA TTCAACTCTG
660

AAATTCTATA CAATCTCTAC AATACTCTAC TGAATAAAAG CAGAGCAGAA AAAGCTGCGC
720

TTTTTTTCCA TAGTCGGGAA TGCTTGTCAT CAGTGTAAAT CACCACCGCG CCCTTTTTCC
780

TAAAGAATAT TATTGTTATT AATAAACATG TAGGGTATTA TCCTCCACTT ACATTACAAA
840

ACCATTTTTT AAAGCCGGGC GTGGTGGCTC ACGCCTGTAA TCCCAGCACT TTGGGAGGCC
900

CAGACAGGCG GATCACGAAG TCGAGAAATC GAGACCATCC TGGCCAACAT GGTGAAACCC
960

CATCTCTACT AAAAATACAA AAATTAGCTG GGCGTGGTGG CGGGCTCCTG TAGTCCCAGC
1020

TACTCAGGAG GCTGAGGCAG GAGAATCGCT TGAACCGGGG AGGCGGAGGT TGCAGTCAGC
1080

CAAGATAGCG CCACTGCACT GGAGCCTGGT GACAGAGTGA GACTCCCTCA AGAAAGAAAG
1140

GAAGGGAAGG GAAAGGGAAG GAAGGGGAGG GGAAGGGAGG GGAGGGGAGG GGAGGAAAGA

SEQP

1200

AAAGAATACT GGAACTTGTT GAAGGCAGAG ACTTTATTTT CATATCCCGG CTATGTCTGG
1260

CTACTGTCTT ACGTAATAGA TATAAAATCA ATCTTGGTTG GATTAACCAG AAGAATCATC
1320

ATACAAAATT ATATCCCTGC TATAAATTCT TAATAATAAT AATCGTATTT CGAGGGAGAG
1380

AATAGCTACA TGCTTTATAA AATAAACTGT GTTCTTATAA TCCGTGAGAG AGGCCGTGCA
1440

TTTGCTAGGA GTACTTTATG GAAGCACTGC TTTTAACAGA ACCATAAGGT ACAGGTAGGA
1500

TTTGACCCAG TGGAGATGAG AAGAAACATT AGGGGCCATG GGCCAGCTGA GTAGGCAAAG
1560

GCAGAAAACT CAGAGTGTAT TCAAGGAATA GCAAACAGTT TGCTTTGAGA AAGGGAGAGC
1620

ACAGTATGAG TTAAGTGGAA AAAGATGGAC TAGATTGTAC AGTCTTGGGT GCTTCGATGT
1680

AGACTTTCTG AGCAAAGTGA AAAATTTGGG AAAATTAATT TGTCAACAAT GAACCATGAC
1740

AACTCCTAGA TGACCTAGGG CAGGAAGGAA GGGAATTTCT TCATCTCTTT CTAACAAAAT
1800

CCTGAATGTA CTATATCTTT CCTAATGTTC CTATTGTCAA ATCTAATCAG AGATGGCTAA
1860

TAATAGTGAC TAATATTTAA AGAGCACTTA TTATGAGTGA TGCATGTTAT GTACATCACC
1920

TCATTTAATC ACCATTGGGA CCCTTCAAGG TTTGTTCTAT TACTCTTCCT GATTTACACA
1980

TGGTAAAACT GAAATTTAGC TAGATTAGGT AAGTCATTCG AAGTCACAAA GCTAAGACTT
2040

AATATAATGT CTGTCTTACT TTGTACCACT CTACAGTCTC TATTCAGCAC AGGATACCTT
2100

TATGGAGTTT GCTTGTGGCA CTGGAGGGAG CACTGAGTTT GGAGTCAGAA GACTCTTAAC
2160

AGTCTTTGGA CCTGGTCCTG TCCAAGCTGA TTACCCCTGG GTGCTAAGTA TTCAACTTAC
2220

CAGAATATAT CTTCTCATTT GTAAAACGTG GGATCACCCA GTAACATTAC CCAGTACAGT
2280

TGGTTAATGT GTTTTCTTTG AAGGTTAGAT GTGATTATAA GTAAGCAAAT TTCAGTTAAA
2340

TATAAAAGTG ATTTTTGAAC AATAGAATTT ATTCAATTAA TAATTCAATT AATAAGACGC
2400

SEQP

```
TATGGTGAAG AGGATGTATT TGAAGAATTC AGACAATGAA TGAATATCTG TCACATATTG
 2460

TAAGGCTTGT GGAACTTACA GTTTAGTGGA GAAGATAAAC CTTCAACAAG TAGTTAATAA
 2520

CCAATATACT GAGCATTTTC TATATGGAGG ACACCACACT ATGTGCTTTA TGTGCATTAT
 2580

TTCATTTAAT TATCATGACT TATCCTGAAA TAATTTAAAA TCTCTAACAG GTGATTATGT
 2640

AAACCACACT AGATTTTTCT GTTGCACCCT GTATTATTAT TTACCTTTTA CAGATAAGAA
 2700

AACTGAGGTT TAAAGAAATT GATTAAGTTT TGCGGAGCGC TAAGGAGTTA AAAGAAAAAT
 2760

GAAAAATGGG CTTAGCTGGC AGGAACAGAA ACAGGGGTAG AGGGGAATGA ATGTTCCAAG
 2820

AATAGGGTCA ACTGCAAATG GCTCACTTAG CACCCAAGCA TCCTCTTACA AGCACCCAGC
 2880

TCACAGCCCA TCTGTAACCA AGCATCCTGT CTGCAAGCAT TCAGCCTAAG GAGCACCCTT
 2940

ATAAAACTCC ACTCGAG
 2957
```

Patentansprüche

1. Isoliertes Nukleinsäuremolekül, das ein alternativ gespleißtes Prostata-spezifisches Membran (PSM') Antigen kodiert, wobei das Antigen eine Aminosäuresequenz hat, die identisch zu dem Teil der Aminosäuresequenz des Prostata-spezifischen Membran (PSM) Antigens ist, der mit Methionin an Position 58 beginnt und mit Alanin an Position 750 endet, und wobei das isolierte Nukleinsäuremolekül nicht den Teil der Aminosäuresequenz des PSM-Antigens kodiert, der mit Methionin an Position 1 beginnt und mit Asparagin an Position 57 endet.

2. Isolierte Nukleinsäure nach Anspruch 1, wobei die Nukleinsäure ein DNA-Molekül ist.

3. Isolierte Nukleinsäure nach Anspruch 2, wobei die Nukleinsäure ein cDNA-Molekül ist.

4. Isolierte Nukleinsäure nach Anspruch 1, wobei die Nukleinsäure ein RNA-Molekül ist.

5. Isoliertes Nukleinsäuremolekül von mindestens 15 Nukleotiden, das spezifisch über eine Exon-Exon-Verbindung hybridisiert, die als Folge von alternativem Spleißen ausgebildet wird, welches diejenigen Nukleotide entfernt, die den Nukleotiden 114 bis 380 der cDNA-Sequenz entsprechen, und die das Prostata-spezifische Membran (PSM) Antigen kodieren.

6. DNA-Molekül nach Anspruch 5.

7. RNA-Molekül nach Anspruch 5.

8. Verfahren zum Detektieren der Expression eines Nukleinsäuremoleküls in einer Zelle, welches das alternativ gespleißte Prostata-spezifische Membran (PSM') Antigen nach Anspruch 1 kodiert, umfassend das Erhalten von Gesamt-mRNA der Zelle, das In-Kontaktbringen der so erhaltenen mRNA mit einem markierten Nukleinsäuremolekül, das spezifisch über eine Exon-Exon-Verbindung hybridisiert, die als Folge von alternativem Spleißen ausgebildet wird, welches unter Hybridisierungsbedingungen diejenigen Nukleotide entfernt, die den Nukleotiden 114 bis 380 der cDNA-Sequenz entsprechen, und die das Prostata-spezifische Membran (PSM) Antigen kodieren, Bestimmen des Vorhandenseins von mRNA, die an das Molekül hybridisiert ist, und dadurch das Detektieren der Expression des alternativ gespleißten Prostataspezifischen Membran (PSM') Antigens in der Zelle.

9. Isoliertes Nukleinsäuremolekül nach Anspruch 2, das funktionell mit einem Promotor der RNA-Trans-

kription verbunden ist.

10. Vektor, der das isolierte Nukleinsäuremolekül nach Anspruch 1 umfasst mit der Bedingung, dass alle zusätzlichen Vektorsequenzen nicht denjenigen Teil der Aminosäuresequenz des PSM-Antigens kodieren, der mit Methionin an Position 1 beginnt und mit Asparagin an Position 57 endet.

11. Wirtsvektorsystem für die Herstellung eines Polypeptides, wobei das Polypeptid alternativ gespleißtes Prostata-spezifisches Membran (PSM') Antigen ist und wobei das Wirtsvektorsystem den Vektor nach Anspruch 10 in einer geeigneten Wirtszelle umfasst.

12. Wirtsvektorsystem nach Anspruch 11, wobei die geeignete Wirtszelle eine Bakterienzelle, Insektenzelle oder Säugetierzelle ist.

13. Verfahren zur Herstellung eines Polypeptides, wobei das Polypeptid alternativ gespleißtes Prostata-spezifisches Membran (PSM') Antigen ist, und welches das Wachsen des Wirtsvektorsystems nach Anspruch 12 unter geeigneten Bedingungen umfasst, und das die Herstellung des Polypeptides und die Rückgewinnung des so hergestellten Polypeptides erlaubt.

14. Isoliertes alternativ gespleißtes Prostata-spezifisches Membran (PSM') Antigen, wobei das Antigen eine Aminosäuresequenz hat, die identisch zu dem Teil der Aminosäuresequenz des Prostata-spezifischen Membran (PSM) Antigens ist, der mit Methionin an Position 58 beginnt und mit Alanin an Position 750 endet.

15. Verfahren zum Detektieren von hämatogenen mikrometastatischen Tumorzellen eines Subjekts, umfassend
(A) die Durchführung einer Polymerase-Kettenreaktion (PCR) von Blut, Knochenmark oder Lymphknotenproben des Subjekts unter Verwendung von Primern, die spezifisch für alternativ gespleißtes Prostata-spezifisches Membran (PSM') Antigen sind, wobei die Primer dazu verwendet werden, ein Nukleinsäuremolekül zu amplifizieren, das alternativ gespleißtes PSM' Antigen kodiert, das eine Aminosäuresequenz hat, die identisch zu dem Teil der Aminosäuresequenz von Prostata-spezifischem Membran (PSM) Antigen ist, der mit Methionin an Position 58 beginnt und mit Alanin an Position 750 endet, und weiterhin wobei sich mindestens ein Primer über eine Exon-Exon-Verbindung erstreckt, die als Folge von alternativem Spleißen ausgebildet wird, welches diejenigen Nukleotide entfernt, die den Nukleotiden 114 bis 360 der cDNA-Sequenz entsprechen, und die das PSM Antigen kodieren, und
(B) Verifizieren der Mikrometastasen durch DNA-Sequenzierung und Southern-Analysen wodurch hämatogene mikrometastatische Tumorzellen des Subjekts detektiert werden.

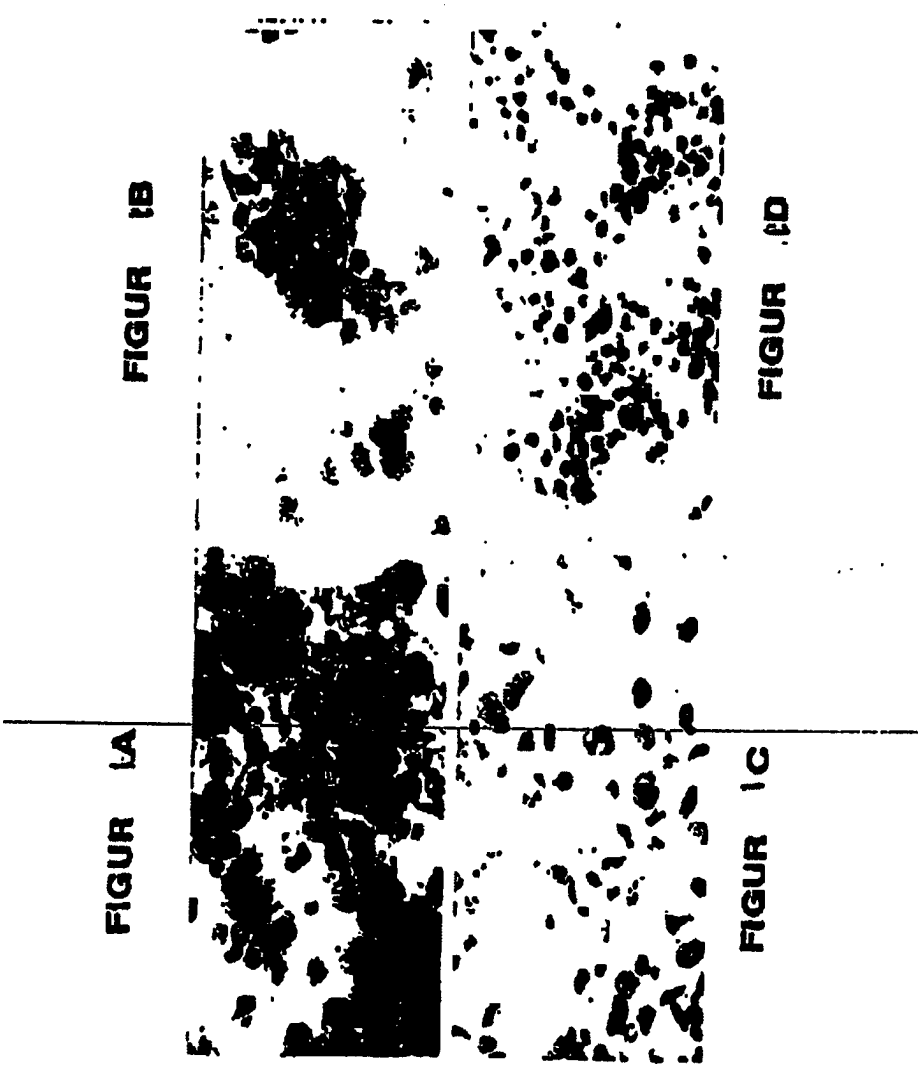
16. Verfahren nach Anspruch 15, wobei die Proben von einem Subjekt sind, dem Hormone, epidermaler Wachstumsfaktor, b-Fibroblast-Wachstumsfaktoren oder Tumornekrosefaktor verabreicht wurden.

17. Verfahren zur Bestimmung des Fortschreitens von Prostatakrebs in einem Subjekt durch Analyse einer Prostata-Gewebeprobe von diesem Subjekt, die umfasst:
(a) Extrahieren der RNA aus einer Prostata-Gewebeprobe;
(b) Durchführen eines RNAase-Schutz-Assays mit der RNA, wodurch ein RNA-RNA-Duplex gebildet wird;
(c) getrennte Bestimmung der Menge von Prostata-spezifischem Membran (PSM) Antigen, und alternativ gespleißtem Prostata-spezifischem Membran (PSM') Antigen in der Gewebeprobe, wobei das PSM' Antigen eine Aminosäuresequenz hat, die identisch zu dem Teil der Aminosäuresequenz des Prostata-spezifischen Membran (PSM)-Antigens ist, der mit Methionin an Position 58 beginnt und mit Alanin an Position 750 endet;
(d) Kalkulieren eines PSM/PSM' Tumorindexes, und
(e) Bestimmung des Fortschreitens des Prostatakrebses in dem Subjekt hieraus.

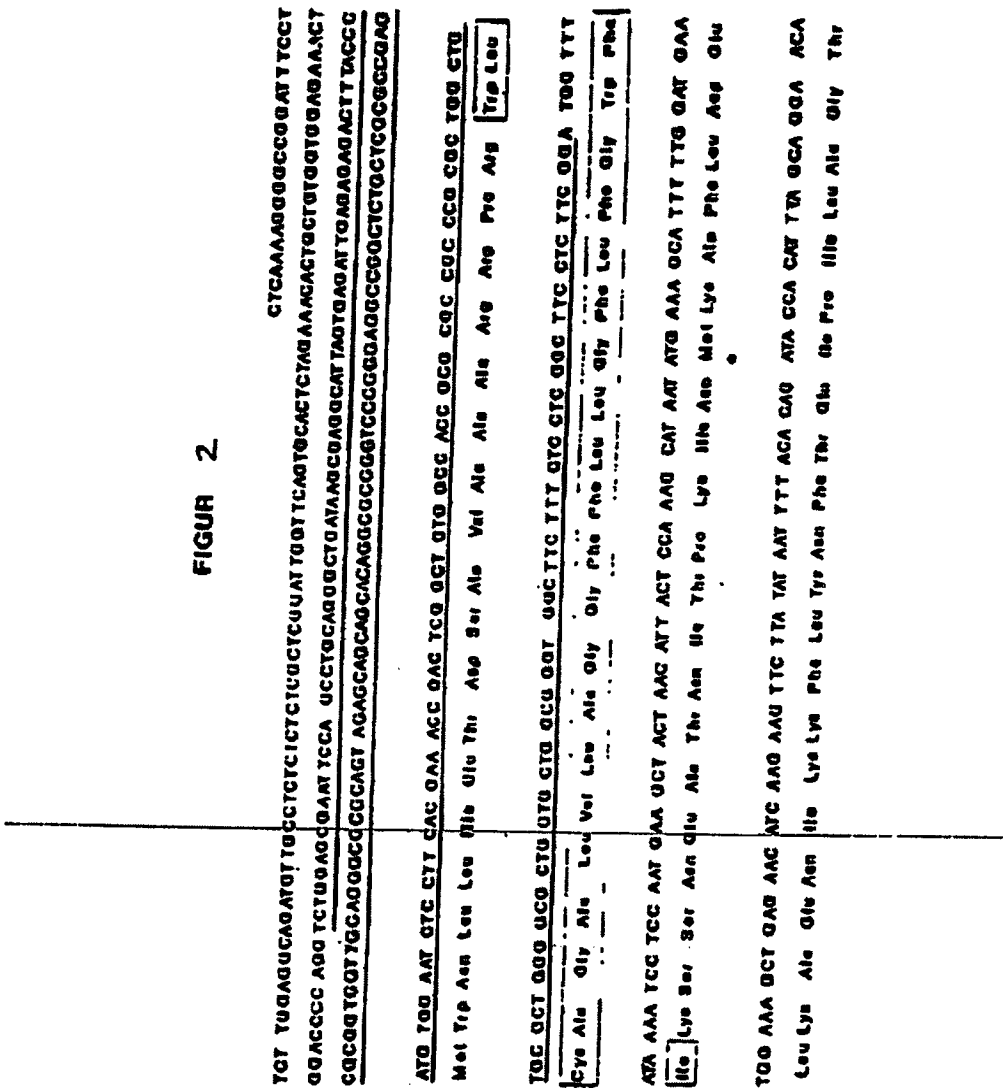
18. Verfahren nach Anspruch 17, das weiter die Durchführung von in-situ Hybridisierung umfasst.

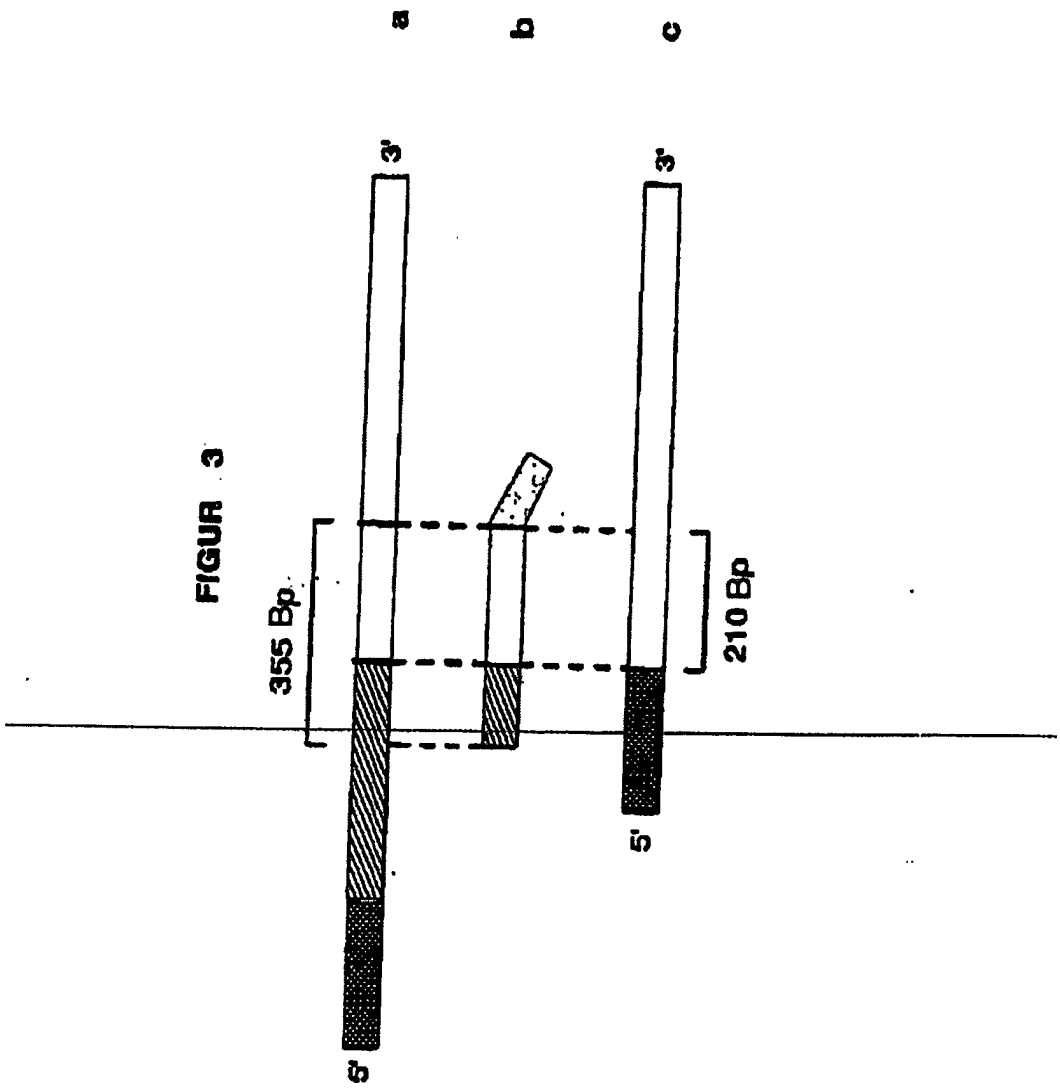
Es folgen 11 Blatt Zeichnungen

Anhängende Zeichnungen

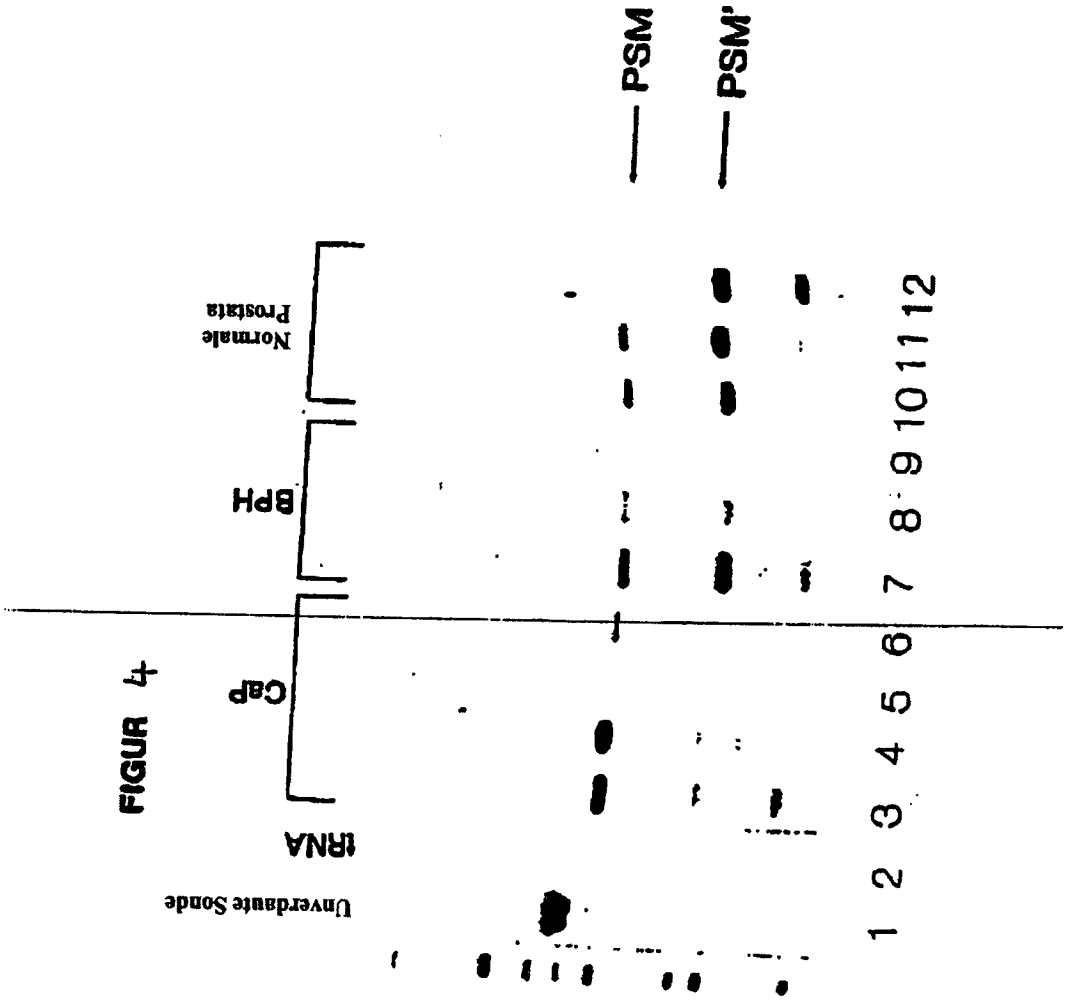


FIGUR 2

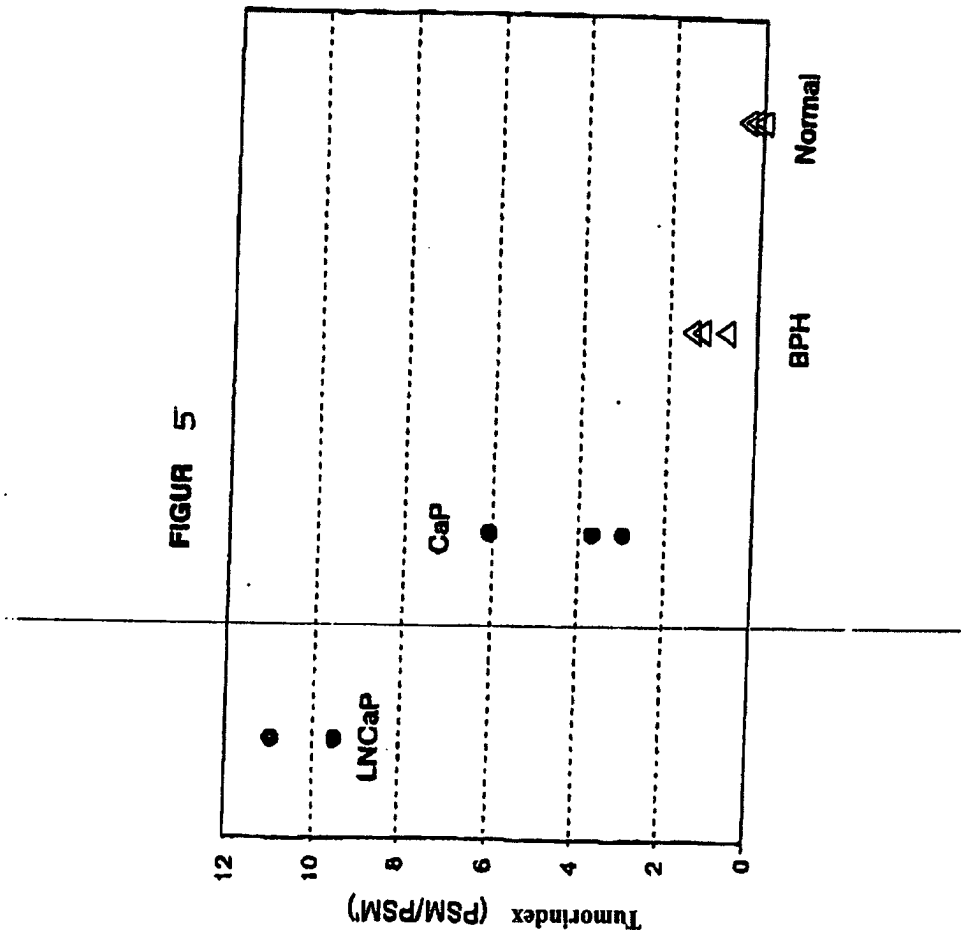




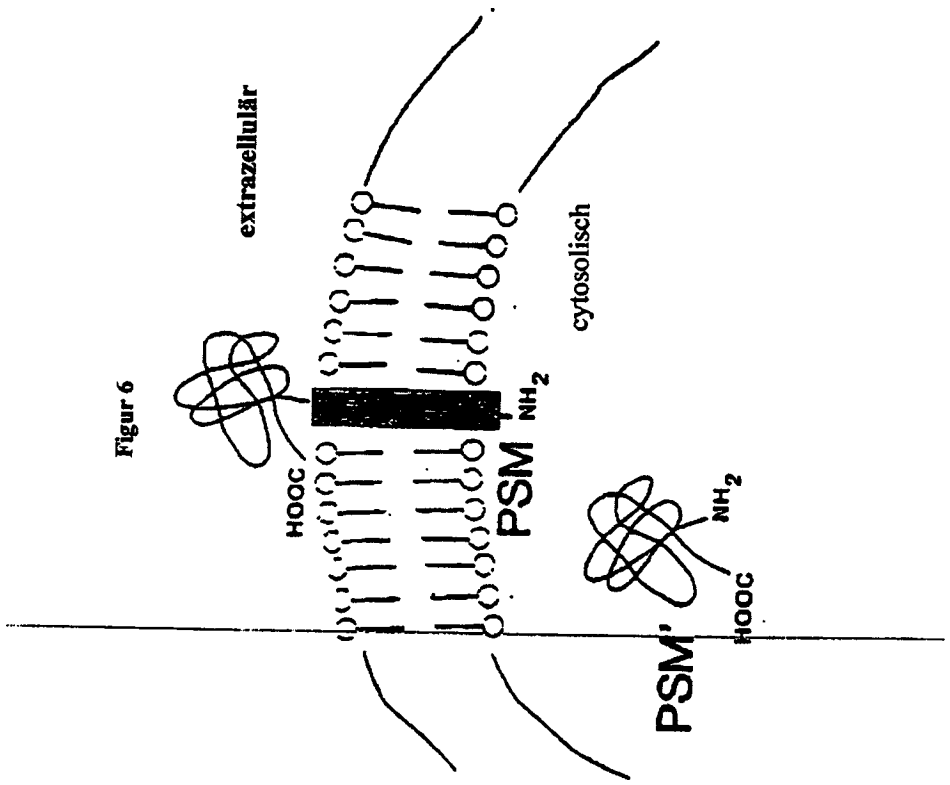
FIGUR 3


PSM
PSM'
Normale Prostata
BPH
CaP
iRNA
Unverdaute Sonde
1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12

FIGUR 4

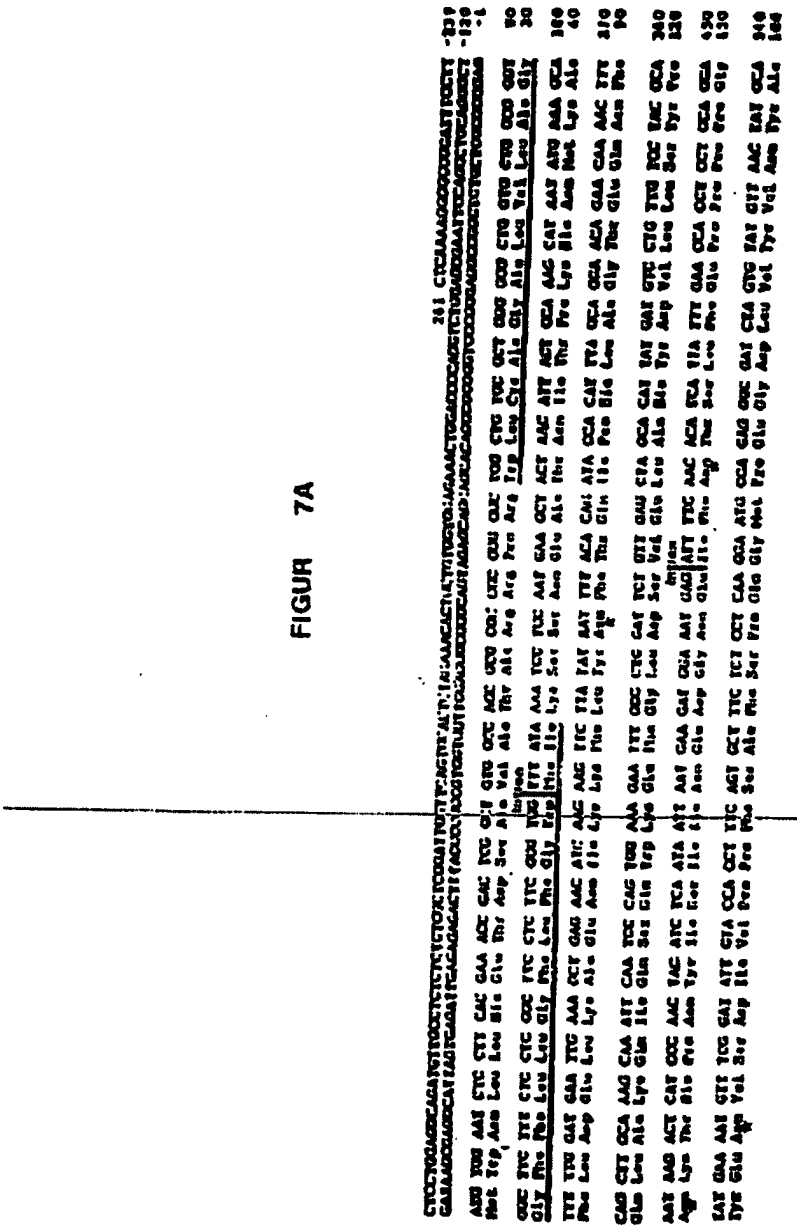


FIGUR 5



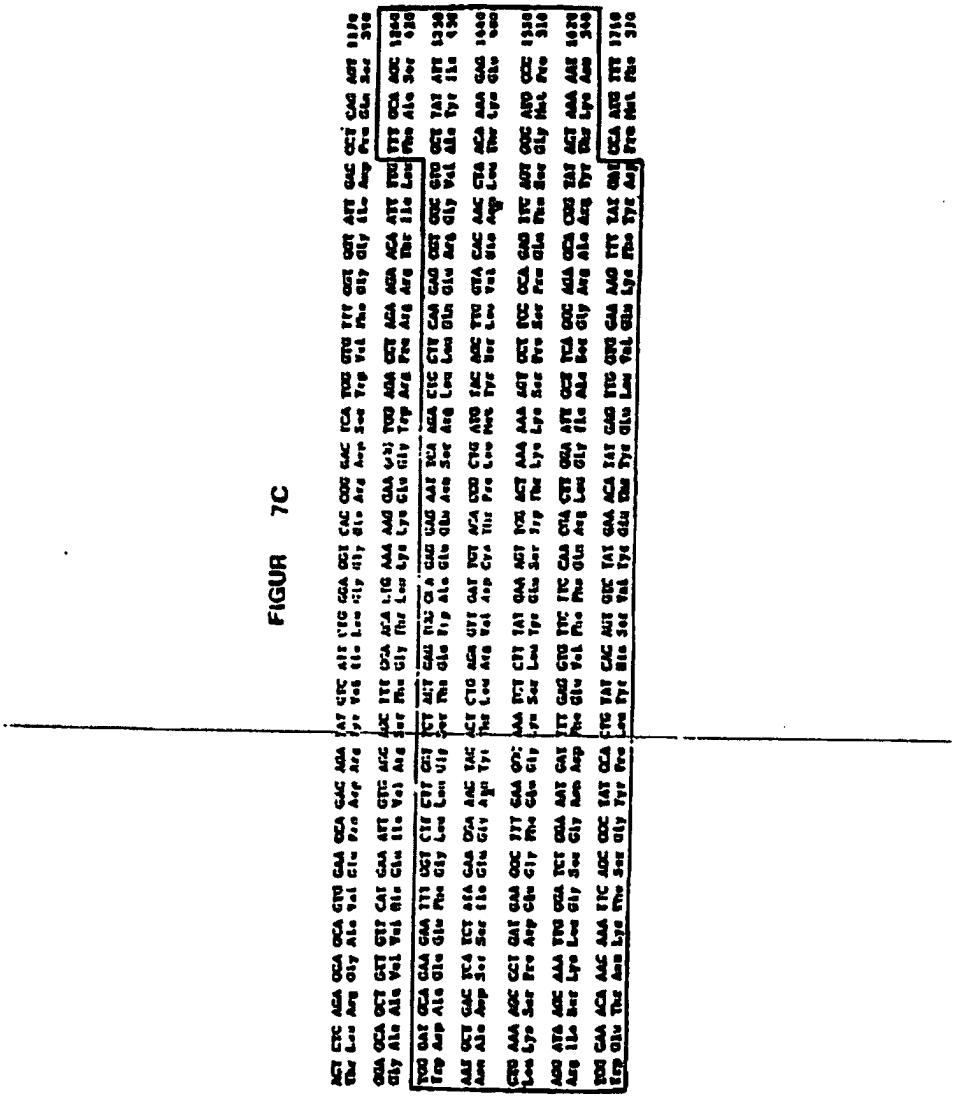
Figur 6

FIGUR 7A

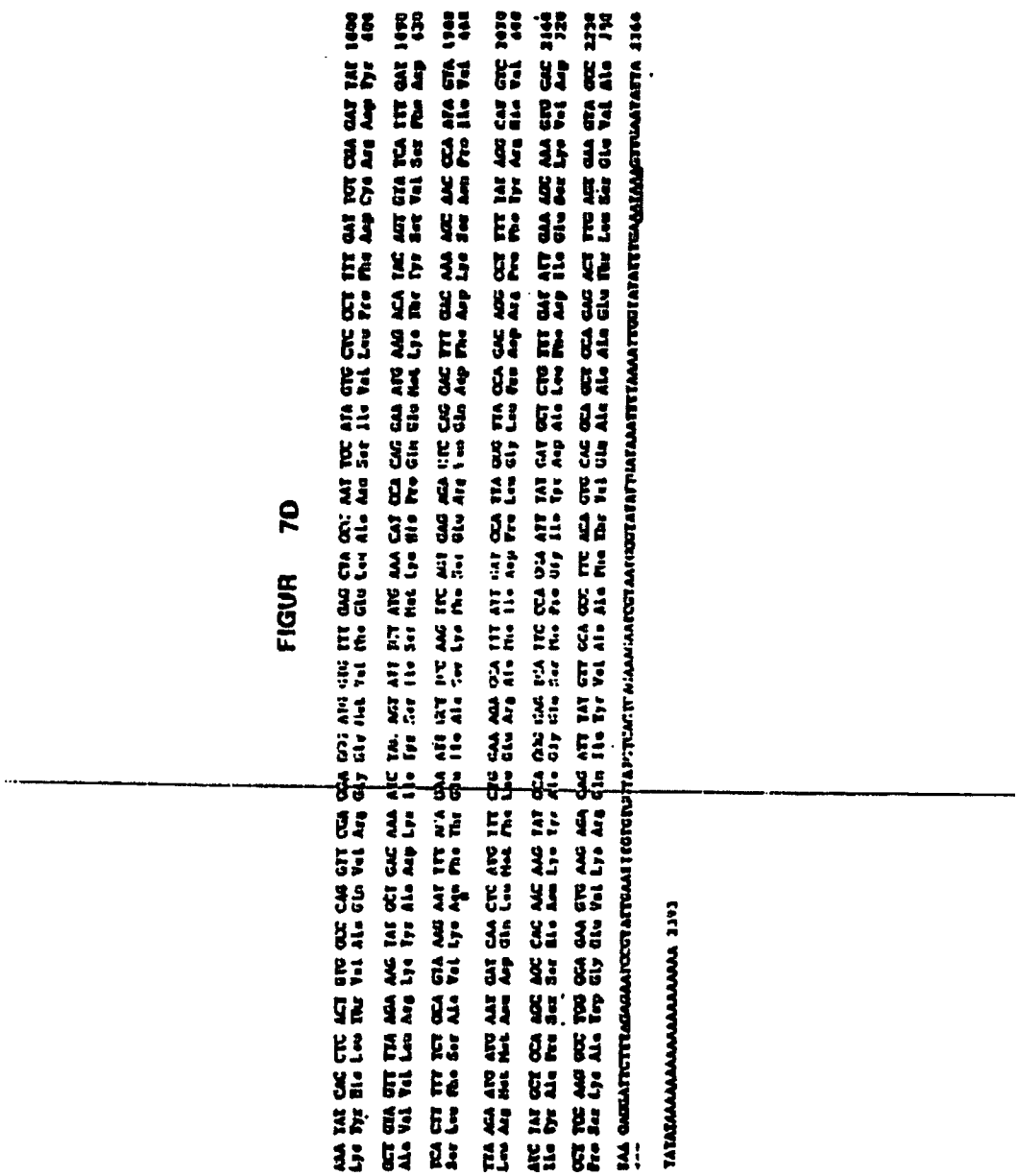


FIGUR 7B

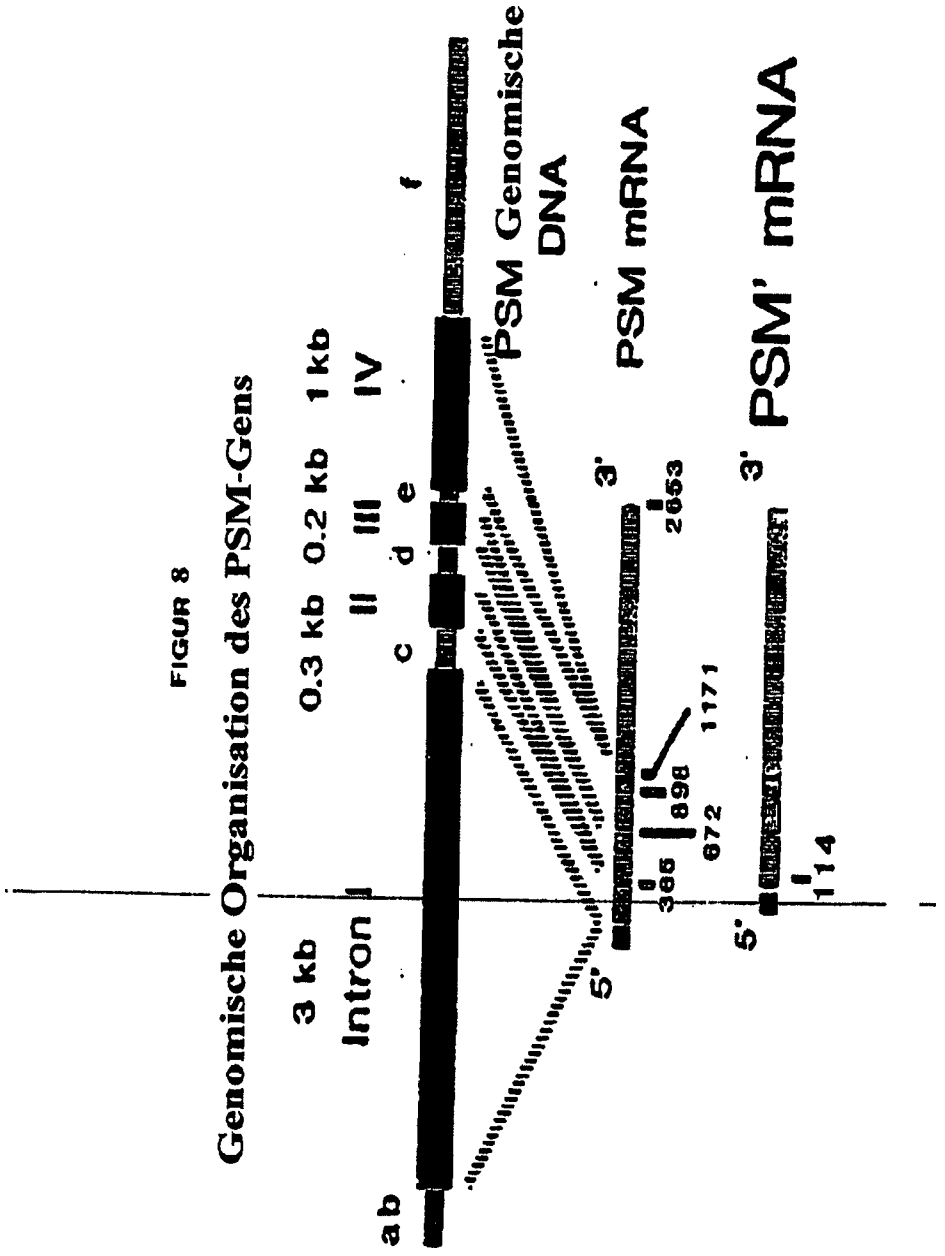
FIGUR 7C



FIGUR 7D



FIGUR 8


Genomische Organisation des PSM-Gens
3 kb
Intron
0.3 kb
0.2 kb
1 kb
II
III
IV
a
b
c
d
e
f
5'
3'
PSM Genomische DNA
PSM mRNA
PSM' mRNA
385
672
898
1171
2853
114