



(19) österreichisches  
patentamt

(10) AT 501 347 A1 2006-08-15

(12) **Österreichische Patentanmeldung**

(21) Anmeldenummer: **A 214/2005** (51) Int. Cl.<sup>8</sup>: **G01N 33/50** (2006.01),  
(22) Anmeldetag: **09.02.2005** **G01N 33/53** (2006.01)  
(43) Veröffentlicht am: **15.08.2006**

(73) Patentanmelder:

"BIOMAY" PRODUKTIONS- UND  
HANDELS- AKTIENGESELLSCHAFT  
A-1090 WIEN (AT)

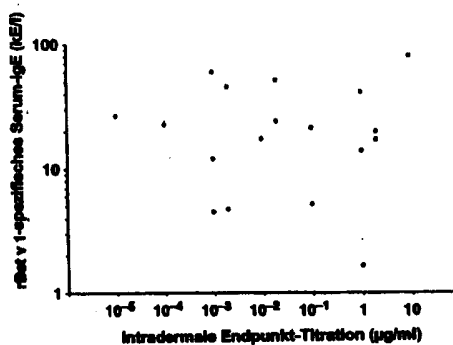
(54) **VERFAHREN UND SET ZUR EVALUIERUNG DER ALLERGENSENSIBILITÄT EINES INDIVIDUUMS**

(57) Die vorliegende Erfindung offenbart ein Verfahren zur Evaluierung der Allergen-Empfindlichkeit eines Individuums und/oder der klinischen Wirksamkeit einer Allergen-Immuntherapie, umfassend die Schritte

- Vorsehen von mindestens zwei Proben von einem Individuum, das einer Immuntherapie mit mindestens einem reinen Allergen oder einem Derivat davon unterzogen wurde oder unterzogen werden soll, wobei die Proben Zellen enthalten, die Mediatoren als Antwort auf dieses Allergen freisetzen können,

- Kontaktieren der Probe mit dem Allergen oder dem Derivat davon, und

- Bestimmen der Mengen der aus der Probe freigesetzten Mediatoren und Evaluieren der Allergen-Empfindlichkeit des Individuums vor der Therapie und/oder der klinischen Wirksamkeit der Immuntherapie durch Vergleichen dieser Mengen.



AT 501 347 A1 2006-08-15

Zusammenfassung:

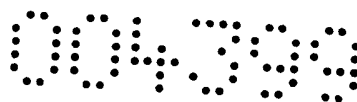
Die vorliegende Erfindung offenbart ein Verfahren zur Evaluierung der Allergen-Empfindlichkeit eines Individuums und/oder der klinischen Wirksamkeit einer Allergen-Immuntherapie, umfassend die Schritte

- Vorsehen von mindestens zwei Proben von einem Individuum, das einer Immuntherapie mit mindestens einem reinen Allergen oder einem Derivat davon unterzogen wurde oder unterzogen werden soll, wobei die Proben Zellen enthalten, die Mediatoren als Antwort auf dieses Allergen freisetzen können,

- Kontaktieren der Probe mit dem Allergen oder dem Derivat davon, und

- Bestimmen der Mengen der aus der Probe freigesetzten Mediatoren und Evaluieren der Allergen-Empfindlichkeit des Individuums vor der Therapie und/oder der klinischen Wirksamkeit der Immuntherapie durch Vergleichen dieser Mengen.

**NACHGEREICHT**



Die vorliegende Erfindung betrifft Verfahren zur Überwachung der Wirksamkeit einer Allergen-Immuntherapie.

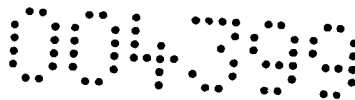
Eine Allergie ist eine Immun-Fehlfunktion, wobei ein Individuum übersensibilisiert ist, so dass es auf typischerweise an sich harmlose Substanzen, Allergene genannt, immunologisch reagiert. Der Hauptantikörper, der an allergischen Reaktionen beteiligt ist, ist IgE. Jedes Individuum hat verschiedene IgE-Antikörper, und jede allergene Substanz stimuliert die Produktion ihres eigenen spezifischen IgE. Ein IgE-Antikörper, der an ein bestimmtes Allergen bindet, reagiert daher nur gegen dieses Allergen. Die konstante Region (Fc-Region) von IgE kann an spezifische Rezeptoren von Zellen binden, die Histamin oder andere Entzündungs-Vermittler, Cytokine und/oder Proteasen in das Umgebungsgewebe freisetzen können. Histamin-freisetzende Zellen sind hauptsächlich Mast- und basophile Zellen. Die Freisetzung von Histamin wird initiiert, wenn Zellen-gebundenes IgE durch ein Allergen kontaktiert und mit diesem vernetzt wird.

Insbesondere Histamin verursacht die allergischen Haupt-Reaktionen. Beispielsweise stimuliert in der Nase, in den Augen und Nebenhöhlen freigesetztes Histamin Niesen, Nasenrinnen und Augenjucken; in den Lungen freigesetzt, bewirkt es eine Verengung und Anschwellen der Auskleidung der Luftwege und die Sekretion von dickem Schleim; in der Haut, Ausschläge und Nesselsucht; und im Verdauungssystem Magenkrämpfe und Durchfall.

Typische Allergene stammen von Pflanzenpollen, wie Weidelgras („rye grass“), Ambrosie („ragweed“), Wiesenlieschgras („timothy grass“) und Birkenpollen, Schimmelpilz-Sporen, Arzneistoffe, wie Penicilline, Sulfonamide, Salicylate und Lokalanaesthetika, Nahrungsmittel, wie Nüsse, essbare Meerestiere, Eier, Erbsen, Bohnen, Erdnüsse und andere Gemüse, Milch, Insektenprodukte, wie Bienenstich-Gift, Wespenstich-Gift, Küchenschaben-Calyx („cockroach calyx“) und Staubmilben, und Tierhaar und -hautschuppen.

Es gibt eine Reihe medizinischer Behandlungen für Allergien. Drei Methoden werden vor allem regelmäßig in der medizinischen Praxis verwendet: Chemotherapie, Immuntherapie und alternative medizinische Methoden.

Bei der Chemotherapie werden antagonistische Arzneistoffe verwendet, um die Wirkung allergischer Mediatoren zu blockieren, wobei die Aktivierung von Zellen und Degranulationsprozesse



verhindert werden. Diese inkludieren Antihistamine, Cortison, Adrenalin (Epinephrin), Theophyllin und Cromolyn-Natrium. Diese Arzneistoffe helfen, die Allergiesymptome zu lindern, spielen aber nur eine geringe Rolle bei der chronischen Linderung der Funktionsstörung. Sie können eine zwingende Rolle bei der akuten Erholung von jemandem, der an Anaphylaxis leidet, spielen.

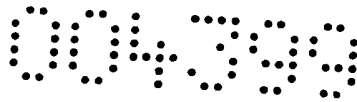
In der alternativen Medizin werden eine Reihe von Behandlungen von jenen, die die Behandlung von Allergien, insbesondere die traditionelle chinesische Medizin, praktizieren, als wirksam angesehen. Jedoch ist keine davon durch Beweise von guter Qualität belegt.

Die vielversprechendste Therapieform ist vermutlich die Immuntherapie. Im Laufe einer Immuntherapie wird ein Individuum allmählich gegen zunehmend größere Dosen des in Frage stehenden Allergens geimpft. Dies kann entweder die Schwere verringern oder die Überempfindlichkeit vollständig eliminieren. Alternativ können monoklonale anti-IgE-Antikörper injiziert werden. Diese Antikörper binden an freies IgE und geben Signale zur Zerstörung solcher Quellen ab. Sie binden nicht an IgE, das bereits an den Fc-Rezeptor an Basophilen und Mastzellen gebunden ist, da dies die allergische Entzündungsreaktion stimulieren würde.

Die bei der Allergen-Immuntherapie verwendeten Proteine und Glykoproteine werden üblicherweise aus Materialien, wie Pollen, Schimmelpilze, Fell und Insekten-Gifte extrahiert. Auf Basis der klinischen Evaluierung erfolgen wiederholte subkutane Injektionen einer Lösung des krankheitsbewirkenden Allergens oder eines Derivats davon ein- oder zweimal pro Woche in steigenden Dosen, bis eine Erhaltungsdosis erreicht ist. Diese Erhaltungsdosis wird dann alle 2 bis 4 Wochen injiziert.

Um eine Immuntherapie erfolgreich durchzuführen, muss eine Überwachung des Verlaufs dieser Therapie durchgeführt werden.

Beispielsweise ist in Wantke et al. (Clin. Exp. Allergy 23 (1993), 992-995) ein Verfahren zur Überwachung einer Immuntherapie für allergische Rhinokonjunktivitis geoffenbart. Darin analysierten die Autoren die spontane Histamin-Freisetzung, d.h. die Freisetzung ohne Zugabe eines Allergens, bei Patienten vor und nach der Immuntherapie und zeigten, dass die Histamin-Freisetzung ins Blut nach Einwirkung des Allergens nach viermonatiger Behandlung signifikant verringert war. Dieses Verfahren kann jedoch nicht verwendet werden, um Änderungen in der Emp-

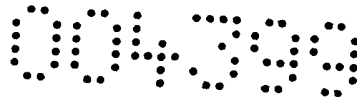


findlichkeit gegenüber einem bestimmten Allergen und die spezifische Wirksamkeit der Behandlung zu beurteilen.

Stephan et al. (Allergy 44 (1989), 453-459) untersuchten die Wirkung der Bienengift-Immuntherapie über einen Zeitraum von mehr als fünf Jahren durch Analysieren der Allergen-induzierten Histamin-Freisetzung in Vollblut. Die Autoren dieser Studie setzten jedoch die Ergebnisse der Histamin-Freisetzung nicht in Korrelation mit einem klinischen Parameter, z.B. Hautempfindlichkeit, und folglich wurden keine Daten gezeigt, die die Verwendung des Tests zur Messung und zur Wiedergabe einer klinischen Empfindlichkeit gegen ein bestimmtes Allergen rechtfertigen würden. Weiters wurden keine vor und nach Behandlung erhaltenen Proben untereinander verglichen.

Yuta et al. (Arerugi 51 (2002), 634-648) untersuchten die Histamin-Freisetzung aus basophilen Zellen, um eine Immuntherapie allergischer Rhinitis zu evaluieren. Die Autoren analysierten Proben zu Beginn der Behandlung und zum Zeitpunkt von sechs Monaten nach Beginn der Immuntherapie und konnten die positive Wirkung der Therapie zeigen. In diesem Artikel wurden vor und nach Behandlung erhaltene Proben analysiert, und die Autoren konnten nur zeigen, dass das Eilprotokoll („rush protocol“) zu einer Erschöpfung der Zellen führt, aber keine Verringerung der Histamin-Freisetzung zeigt. In diesem Zusammenhang sei bemerkt, dass die Eil-Immuntherapie („rush immunotherapy“) schon funktioniert, bevor „blockierende Antikörper“ durch Immuntherapie induziert werden, d.h., manchmal nach Stunden und ein paar Tagen. Dies kann als Erschöpfung von Zellen interpretiert werden. Jedoch ist die Beurteilung der Auswirkung blockierender Antikörper, die nach mehrwöchiger Behandlung auftreten, wichtig. Folglich muss ein Test, in welchem die IgG-Antikörper noch vorhanden sind, z.B. Vollblut, verwendet werden. Dagegen wurden bei Yuta et al. die Zellen gewaschen, und folglich konnte die störende Einwirkung von blockierendem IgG nicht gemessen werden.

Zusätzlich zur Histamin-Freisetzung sind auch andere Methoden für die Beurteilung der Basophilen- und Mastzellen-Aktivierung bekannt, die das Messen der Freisetzung von Leutrienen (Van Rooyen & Anderson, R.J.Immunol. Methods 2004, 288, 1-7), Tryptase (Taira M. et al., J. Asthma, 2002, 39, 315-322) und anderer Mastzellen oder basophiler Produkte, die nach Allergenspezifischer Aktivierung der Mastzellen und Basophilen frei-



gesetzt werden, inkludieren. Weiters kann auch die Aufwärts-Regulierung von Aktivierungs-Markern, wie CD63 und CD203c, die sich aus der Einwirkung eines Allergens auf ein Individuum ergibt, durch Strömungs-Zytometrie gemessen werden (Hauswirth A.W., et al., J. Allergy Clin. Immunol. 2002, 110, 102-109).

Daher ist es ein Ziel der vorliegenden Erfindung, in vitro-Mittel und Methoden zur möglichst genauen Überwachung der klinischen Effizienz und des Fortschritts einer Allergen-Immuntherapie und Allergen-Empfindlichkeit eines Individuums vorzusehen.

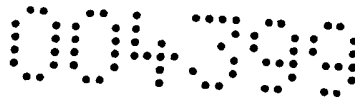
Daher sieht die vorliegende Erfindung ein Verfahren zur Evaluierung der Allergen-Empfindlichkeit eines Individuums und/oder der klinischen Wirksamkeit einer Allergen-Immuntherapie vor, umfassend die Schritte:

- Vorsehen von mindestens zwei Proben von einem Individuum, das einer Immuntherapie mit mindestens einem reinen Allergen oder einem Derivat davon unterzogen wurde oder unterzogen werden soll, wobei die Proben Zellen enthalten, die Mediatoren als Antwort auf dieses Allergen freisetzen können,

- Kontaktieren der Probe mit dem Allergen oder dem Derivat davon, und

- Bestimmen der Mengen der aus der Probe freigesetzten Mediatoren und Evaluieren der Allergen-Empfindlichkeit des Individuums vor der Therapie und/oder der klinischen Wirksamkeit der Immuntherapie durch Vergleichen dieser Mengen.

Die Evaluierung der Allergen-Empfindlichkeit eines Individuums und/oder der klinischen Wirksamkeit sowie des Fortschritts einer Allergen-Immuntherapie ist wichtig, um eine wirksame Behandlung zu garantieren, beispielsweise durch Veränderung der Dosis und/oder der Zeitintervalle des verabreichten Allergens. Daher wird ein verlässliches Verfahren zur Überwachung der Immuntherapie benötigt, welches die Empfindlichkeit eines Individuums gegenüber einer bestimmten Art von Allergen vor und im Verlauf einer Immuntherapie direkt widerspiegelt. Es zeigte sich, dass die Messung der Menge an IgE, die spezifisch an ein Allergen bindet, nicht geeignet ist, um den Grad der Sensibilisierung eines Individuums für eine bestimmte Art von Allergen zu bestimmen, da es keine direkte Korrelation zwischen der Menge an IgE, die in einem Individuum vorhanden ist, und der Mediator-Freisetzung aus Mast- und basophilen Zellen gibt. Daher ist die



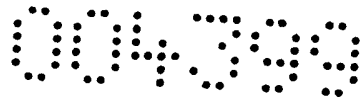
Freisetzung von Mediator einer Probe eines Individuums, die Mediator-freisetzende Zellen aufweist, bevorzugt. Man fand überraschenderweise, dass das Verfahren gemäß der vorliegenden Erfindung vergleichbare, wenn nicht identische, Ergebnisse erbrachte wie der traditionell verwendete Haut-Empfindlichkeits-Test.

Die von einem Individuum gelieferten Proben werden vorzugsweise mit demselben Allergen, welches für die Immuntherapie verwendet wird, kontaktiert. Es ist jedoch auch möglich, die Immuntherapie mit einem Allergen-Extrakt durchzuführen und die Therapie mit im Wesentlichen gereinigten („reinen“) Allergenen zu überwachen.

Natürlich kann das Verfahren gemäß der vorliegenden Erfindung auch verwendet werden, um den Fortschritt einer Allergen-Immuntherapie zu überwachen, indem die Allergen-Empfindlichkeit eines Individuums im Laufe der Therapie bestimmt wird.

„Allergene“ gemäß der vorliegenden Erfindung sind Moleküle oder Mischungen von Molekülen, die die Erzeugung spezifischer Antikörper (IgE) induzieren, welche dafür verantwortlich sind, die Mediator-Freisetzung aus einer Mediator-freisetzenden Zelle auszulösen und folglich allergische Auswirkungen im Individuum zu verursachen. Natürlich können „Allergene“ auch die Erzeugung von anderen Antikörpern als IgE (z.B. IgG) induzieren. Die beim Verfahren gemäß der vorliegenden Erfindung verwendeten Allergene sind jedoch vorzugsweise gereinigt, d.h. die Allergene bestehen im Wesentlichen aus einem einzigen Allergen-Molekül, wobei der Grad der Reinheit 90% (Gew./Gew.), vorzugsweise 95% (Gew./Gew.), am meisten bevorzugt 99% (Gew./Gew.), überschreitet. Infolge der Verwendung von im Wesentlichen gereinigten oder isolierten Allergenen ist es möglich, die Menge der bei der Immuntherapie sowie bei einem Verfahren gemäß der vorliegenden Erfindung verwendeten Allergene auf reproduzierbare Weise zu bestimmen und zu dosieren. Dagegen enthalten Allergen-Extrakte unterschiedliche Konzentrationen des spezifischen Allergens, je nach den spezifischen Reinigungsbedingungen. Weiters können Allergen-Extrakte auch mehr als ein Allergen enthalten, die im Extrakt in verschiedenen Konzentrationen vorhanden sein können (die Menge des Allergens, an dem ein Interesse besteht, ist nicht genau definierbar) und können weiters Kreuzreaktionen hervorrufen.

**NACHGEREICHT**



Außerdem können Allergen-Extrakte Verunreinigungen oder Substanzen enthalten, die die Stabilität des Extrakts beeinflussen können. Dieses Problem kann auch durch Verwendung von im Wesentlichen gereinigten oder „reinen“ Allergenen vermieden werden.

Gemäß einer bevorzugten Ausführungsform der vorliegenden Erfindung sind die Mediatoren ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus Histamin, Tryptase, Prostaglandinen, Leukotrienen, insbesondere Cysteinyl-Leukotrienen, kationischem eosinophilem Protein, Cytokinen, wie Interleukinen (IL), insbesondere IL-2R, CD63, CD203c und Kombinationen davon.

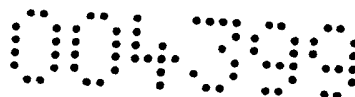
Die allergische Reaktion eines Individuums nach Einwirkung eines Allergens auf das Individuum wird vor allem durch das Freisetzen von Mediatoren durch Mastzellen verursacht. Diese Mediatoren erzeugen die frühen Symptome einer allergischen Reaktion (z.B. Niesen, Juckreiz) und stimulieren die Produktion und Infiltration von zirkulierenden Leukozyten (z.B. Eosinophilen) in lokales Gewebe. Die Mediatoren können aus den Zellen durch Degranulation (Histamin und Proteasen) freigesetzt werden, oder nach Neosynthese dieser Mediatoren (Quraishi S.A. et al., JAOA Supplement 5, 104:S7-S15). Gemäß der vorliegenden Erfindung können auch Aktivierungs-Marker - neben Mediatoren - bestimmt werden (z.B. Yoshimura C. et al., (2002) J. Allergy Clin. Immunol. 109:817-23).

Die Probe ist vorzugsweise Blut oder Fraktionen davon, Bindegewebe, Nasen-, Bronchien-, Haut- oder Darm-Biopsie-Material.

Mediator-freisetzende Zellen kann man im Blut und in Fraktionen davon, in Binde- und mehreren anderen Geweben finden. Man stellte überraschenderweise fest, dass das Verfahren gemäß der vorliegenden Erfindung die Hautempfindlichkeit genau widerspiegelt, wenn man reine Allergene verwendet, insbesondere, wenn Vollblut verwendet wird. Dagegen korrelierten Messungen von spezifischem IgE nicht mit der Hautempfindlichkeit. Daher kann die bei einem Verfahren gemäß der vorliegenden Erfindung zu verwendende Probe eine Blutprobe (vorzugsweise heparinisiertes Blut) oder Bindegewebe sein.

Gemäß einer bevorzugten Ausführungsform der vorliegenden Erfindung werden die Zellen aus der Probe isoliert.

Vorteilhaft werden die Mediator-freisetzenden Zellen aus der Probe isoliert. Infolge dieser Isolierung können andere mögli-



cherweise störenden Substanzen, die in der Probe vorhanden sind, entfernt werden. Insbesondere in Anbetracht der Tatsache, dass Blut beispielsweise freigesetzten Mediator enthalten kann, der während des Bestimmens der Menge des nach Kontakt mit einem Allergen in die Probe freigesetzten Mediators einen hohen Hintergrund liefern kann. Dieses Problem kann durch Messen der Menge an Mediator, der in der Probe vorhanden ist, bevor diese einem Allergen ausgesetzt wird, vermieden werden.

Vorzugsweise sind diese Zellen Mast- und/oder basophile und/oder eosinophile Zellen.

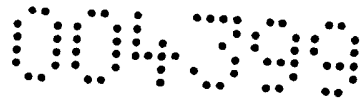
Mast- und basophile Zellen sind jene Zellen, die die meisten Mediatoren freisetzen, insbesondere Histamin, wenn sie einem Allergen ausgesetzt werden. Mastzellen findet man in Bindegeweben der Haut, Lunge und des Magendarm-Trakts, wogegen man basophile Zellen im Blut findet. Diese Zellen können mit bekannten Verfahren isoliert und bei einem Verfahren gemäß der vorliegenden Erfindung verwendet werden. Isolations-Protokolle für Mastzellen findet man in Jamur MC et al. (J. Histochem. Cytochem. 1997, 45:1715-1722), Massey WA (J. Immunol. 1991, 147:1621-7), Isolations-Protokolle für basophile Zellen in Valent P. (Proc. Natl. Acad. Sci. USA 1989, 86, 5542-5546).

Gemäß einer bevorzugten Ausführungsform der vorliegenden Erfindung umfasst die Probe weiters Immunglobuline (Ig), insbesondere Immunglobulin G (IgG).

Das Verfahren sollte vorzugsweise mit Proben durchgeführt werden, die IgG enthalten, z.B. Vollblut-Proben. Das Vorhandensein von IgG in solchen Proben ist bevorzugt, da es die Messung der Beeinflussung von blockierendem IgG ermöglicht, während diese Zellen dem Allergen ausgesetzt sind. Im Laufe einer Allergen-Immuntherapie werden IgGs, die gegen Allergen gerichtet sind, erzeugt. Diese IgGs binden an das Allergen, wenn ein Individuum mit dem Allergen kontaktiert wird, und verhindern, dass das Allergen an IgE bindet. Da die Erzeugung von Allergen-bindenden IgGs daher bei der Reaktion eines Individuums auf ein Allergen eine direkte Rolle spielt und somit die Allergen-Empfindlichkeit eines Individuums beeinflusst, sollte die Probe vorzugsweise IgGs enthalten.

Um die Allergen-Empfindlichkeit eines Individuums oder die klinische Wirksamkeit einer Allergen-Immuntherapie zu evaluieren, werden die Proben vorzugsweise bevor und nachdem das In-

**NACHGEREICHT**



dividuum einer Immuntherapie unterzogen wurde vorgesehen.

Um die Wirksamkeit einer Immuntherapie zu überwachen und zu evaluieren, ist es notwendig, die Empfindlichkeit eines Individuums gegenüber einem Allergen vor und im Laufe der Therapie zu bestimmen. Daher wird die Mediator-Freisetzung in verschiedenen Stadien der Therapie bestimmt. Im Verlauf der Therapie nimmt die Empfindlichkeit gegenüber einem Allergen idealerweise ab. Weiters kann die Bestimmung der Mediator-Freisetzung an einem oder mehreren Zeitpunkten vor der Immuntherapie nützlich für die Dosierung des Allergens im Verlauf der Therapie sein.

Gemäß einer weiteren bevorzugten Ausführungsform der vorliegenden Erfindung werden die Proben vorgesehen, nachdem das Individuum einer Immuntherapie unterzogen wurde.

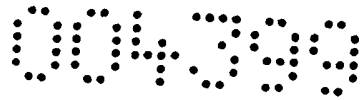
Natürlich kann eine Immuntherapie auch alleine durch Analysieren von Proben nach der ersten Verabreichung eines Medikaments, das ein Allergen umfasst, evaluiert werden.

Vorzugsweise wird die mindestens eine Probe vorgesehen nach einem Maximum von 1 Stunde, 2 Stunden, 6 Stunden, 12 Stunden, 24 Stunden, 5 Tagen, 10 Tagen, 4 Wochen, 6 Monaten, 12 Monaten, 24 Monaten und 36 Monaten, nachdem das Individuum einer Immuntherapie unterzogen wurde.

Die zu analysierende Probe kann nach einer bestimmten Zeitdauer nach der ersten Verabreichung des Allergens vorgesehen werden. Auch die Zeitintervalle zwischen den einzelnen Bestimmungen der Mediator-Freisetzung können vorzugsweise innerhalb des Bereichs von 1 Stunde, 2 Stunden, 6 Stunden, 12 Stunden, 2 Tagen, 5 Tagen, 1 Woche, 2 Wochen, 4 Wochen, 2 Monaten, 4 Monaten, 6 Monaten, 12 Monaten und 24 Monaten variiert werden.

Gemäß einer bevorzugten Ausführungsform wird das Allergen rekombinant erzeugt.

Eine wirksame Allergen-Immuntherapie und ein genaues Verfahren zum Bestimmen der Freisetzung von Mediator wird vorzugsweise mit einem Allergen, das rekombinant erzeugt wird, durchgeführt. Aufgrund der Gentechnik ist es möglich, ein spezifisches Allergen in großer Menge herzustellen und dieses Allergen zu isolieren. Allergene werden gewöhnlich direkt aus der Quelle, die das Allergen enthält (z.B. Pollen) isoliert, und da das Allergen in einem Extrakt enthalten ist, ist dieses Allergen immer Teil einer Mischung verschiedener allergener und potentiell allergener Substanzen. Sogar gereinigte „natürliche Allergene“ be-



stehen aus mehreren Isoformen, von welchen einige sogar hypo- oder nicht-allergen sein können und daher falsche Testergebnisse liefern (Ferreira F. et al., J. Exp. Med. 1996, 183, 599-609). Dieses Problem kann durch die rekombinante Herstellung von Allergenen vermieden werden. Das für die Verabreichung an ein Individuum verwendete Allergen kann auch bei einem Verfahren gemäß der vorliegenden Erfindung verwendet werden.

Dieses Allergen umfasst vorzugsweise mindestens eine Deletion, mindestens eine Substitution oder mindestens eine Insertion.

Auch hypoallergenes Allergen oder Derivate davon können verwendet werden, wenn sich die Frage stellt, ob der Patient während der Behandlung auf diese Derivate sensibilisiert werden kann.

Gemäß einer bevorzugten Ausführungsform der vorliegenden Erfindung wird das Allergen durch Umordnen („reshuffling“) der Fragmente dieses Allergens mittels Gentechnik modifiziert.

Die Probe wird vorzugsweise mit verschiedenen Konzentrationen des Allergens kontaktiert.

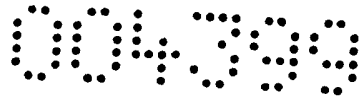
Die Menge des Mediators, der von einer Mediator-freisetzenden Zelle freigesetzt wird, hängt von der beim Verfahren gemäß der vorliegenden Erfindung verwendeten Konzentration des Allergens ab. Je höher die Konzentration des Allergens ist, die zur Induktion der Freisetzung einer bestimmten Menge an Mediator verwendet wird, desto geringer ist die Empfindlichkeit der von einem Individuum bereitgestellten Zellen, und umgekehrt. Daher erfordert die Bestimmung der Menge des freigesetzten Mediators die Verwendung unterschiedlicher Allergen-Konzentrationen.

Vorzugsweise wird die Konzentration des Allergens ausgewählt im Bereich von  $1\text{ng/ml}$  bis  $100\mu\text{g/ml}$ , vorzugsweise im Bereich von  $1\text{pg/ml}$  bis  $10\mu\text{g/ml}$ .

Gemäß einer bevorzugten Ausführungsform wird die gesamte Mediator-Menge der Zellen, die in der von einem Individuum vorgesehenen Probe enthalten sind, bestimmt.

Um die Menge des gesamten Mediators, der in den Zellen vorhanden ist, zu bestimmen, werden diese Zellen lysiert, z.B. durch mehrere Auftau- und Gefrier-Zyklen. Die festgestellte Menge an Mediator gibt den Mediator an, der potentiell von diesen Zellen freisetzbar ist, welcher Wert verwendet werden kann, um den Grad der zellulären Sensibilisierung der Zellen gegen ein bestimmtes Allergen zu bestimmen.

**NACHGEREICHT**



Ein Grad der zellulären Sensibilisierung ist vorzugsweise definiert durch Bestimmen der Konzentration des Allergens, die die Freisetzung von 10%, vorzugsweise 30%, der Gesamtmenge des Mediators der Zellen induziert.

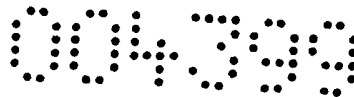
Der Grad der zellulären Sensibilisierung ist ein Indikator des Fortschritts der Immuntherapie, weil er die Konzentration zeigt, bei welcher eine Zelle 10%, vorzugsweise 20%, 25%, 30%, der Gesamtmenge an in der Mediator-freisetzenden Zelle vorhandenem Mediator freisetzt. Im Verlauf einer erfolgreichen Allergen-Immuntherapie sollte die Konzentration des verwendeten Allergens ansteigen, weil eine hohe Konzentration von Allergenen, die eine bestimmte Menge an Mediator aus diesen Zellen freisetzt, anzeigt, dass die Zellen weniger empfindlich sind als bei einer vorherigen Messung. Auch die Dosis, die eine maximale Freisetzung des Mediators induziert, kann evaluiert werden. Dies macht es möglich, eine Dosis/Antwort-Kurve zu erzeugen und die Verschiebung dieser Kurve im Laufe einer Allergen-Immuntherapie zu messen.

Daher wird die Allergen-Empfindlichkeit eines Individuums und/oder die klinische Wirksamkeit der Allergen-Immuntherapie vorzugsweise durch Beobachten des Grades der zellulären Sensibilisierung im Verlauf der Immuntherapie evaluiert.

Gemäß einer bevorzugten Ausführungsform der vorliegenden Erfindung wird der Mediator in der Probe durch ein immunologisches und/oder ein chromatographisches Verfahren bestimmt, vorzugsweise ist das Verfahren ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus Radioimmunoassay (RIA), Enzyme-linked Immunosorbent-Assay (ELISA), Hochleistungs-Flüssigkeits-Chromatographie (HPLC), Reverse-Transkriptase-Polymerase-Kettenreaktion, Immunfluoreszenz-Strömungs-Zytometrie und Kombinationen davon.

Alle diese Verfahren wurden etabliert, um der klinischen Empfindlichkeit näher zu kommen. Jedoch wurde keine dieser Methoden verwendet, um sich ein reines Allergen hinsichtlich Serologie, basophiler Aktivierung und Haut-Empfindlichkeit anzusehen (z.B. Pierkes M. et al., J. Allergy Clin. Immunol. (1999) 103:326-32; Di Lorenzo G. et al., J. Allergy Clin. Immunol. (1997) 100:832-7).

Bevorzugte, bei der vorliegenden Erfindung zu verwendende Allergene umfassen alle wesentlichen Protein-Allergene, verfügbar z.B. unter [www.allergen.org/list.htm](http://www.allergen.org/list.htm). Besonders bevorzugte



Gruppen von Allergenen gemäß der vorliegenden Erfindung inkludieren Profilin, insbesondere Phl p 12, Birken-Allergene, insbesondere Bet v 4, Staubmilben-Allergene, insbesondere Der p2, Vorratsmilben-Allergene, insbesondere Lep d 2, Wiesenlieschgras-Allergene, insbesondere Phl p 7, und die in Tabelle 1 aufgezählten Allergene.

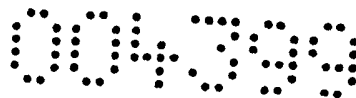
Tabelle 1: bevorzugte, bei der vorliegenden Erfindung zu verwendende Allergene (inklusive Referenz-Beispiele)

## ALLERGENE

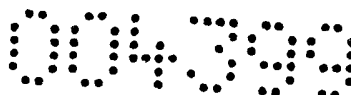
### Spezies-Name

Allergen-Name	Biochem.ID oder obsoleter Name	Mol.-Gew.	cDNA oder Protein	Literaturstelle, Hinterlegungs-Nr.
<b>Ambrosia artemisiifolia</b>				
Beifußblättrige Ambrosie („short ragweed“)				
Amb a 1	Antigen E	8	C	8, 20
Amb a 2	Antigen K	38	C	8, 21
Amb a 3	Ra3	11	C	22
Amb a 5	Ra5	5	C	11, 23
Amb a 6	Ra6	10	C	24, 25
Amb a 7	Ra7	12	P	26
<b>Ambrosia trifida</b>				
Dreilappige Ambrosie („giant ragweed“)				
Amb t 5	Ra5G	4,4	C	9, 10, 27
<b>Artemisia vulgaris</b>				
Beifuß („mugwort“)				
Art v 1		27-29	C	28
Art v 2		35	P	28A
Art v 3	Lipid-Transfer-Protein	12	P	53
Art v 4	Profilin	14	C	29
<b>Helianthus annuus</b>				
Sonnenblume				
Hel a 1		34		29A
Hel a 2	Profilin	15,7	C	Y15210
<b>Mercurialis annua</b>				
Mer a 1	Profilin	14-15	C	Y13271
<b>Caryophyllales</b>				
<b>Chenopodium album</b>				
Weißer Gänsefuß („lamb's-quarters“, „pigweed“),				
Che a 1		17	C	AY049012, 29B

**NACHGEREICHT**



Weißer Gänsefuß („white goosefoot“)					
Che a 2	Profilin	14	C		AY082337
Che a 3	Polcalcin	10	C		AY082338
Salsola kali					
Kali-Salzkraut („Russian-thistle“)					
Sal k 1		43	P		29C
Rosales					
Humulus japonicus					
Japanischer Hopfen („Japanese hop“)					
Hum j 4w			C		AY335187
Parietaria judaica					
Par j 1	Lipid-Transfer-Protein 1	15	C		vgl. Liste d. Isoallergene
Par j 2	Lipid-Transfer-Protein 2		C		vgl. Liste d. Isoallergene
Par j 3	Profilin		C		vgl. Liste d. Isoallergene
Parietaria officinalis					
Par o 1	Lipid-Transfer-Protein	15			29D
B. Gräser					
Poales					
Cynodon dactylon					
Bermudagrass („Bermuda grass“)					
Cyn d 1		32	C		30, S83343
Cyn d 7			C		31, X91256
Cyn d 12	Profilin	14	C		31a, Y08390
Cyn d 15		9	C		AF517686
Cyn d 22w	Enolase	Daten			anhängig
Cyn d 23	Cyn d 14	9	C		AF517685
Cyn d 24	Pathogenese-verwandt.P.	21	P		anhängig
Dactylis glomerata					
Knäuelgras („orchard grass“)					
Dac g 1	AgDg1	32	P		32
Dac g 2		11	C		33, S45354
Dac g 3			C		33A, U25343
Dac g 5		31	P		34
Festuca pratensis					
Wiesenschwingel („meadow fescue“)					
Fes p 4w		60	-		
Holcus lanatus					
Wolliges Honiggras („velvet grass“)					
Hol l 1			C		Z27084



Lolium perenne

Ausdauerndes Weidelgras („rye grass“)

Lol p 1	Gruppe I	27	C	35, 36
Lol p 2	Gruppe II	11	P	37, 37A, X73363
Lol p 3	Gruppe III	11	P	38
Lol p 5	Lol p IX, Lol p Ib	31/35	C	34, 39
Lol p 11 hom:	Trypsin-Inhibitor	16		39A

Phalaris aquatica

Wasserglanzgras („canary grass“)

Pha a 1			C	40, S80654
---------	--	--	---	------------

Phleum pratense

Wiesenlieschgras („timothy“)

Phl p 1		27	C	X78813
Phl p 2			C	X75925, 41
Phl p 4			P	41A
Phl p 5	Ag25	32	C	42
Phl p 6			C	Z27082, 43
Phl p 11	Trypsin-Inhibitor hom.	20	C	AF521563, 43A
Phl p 12	Profilin		C	X77583, 44
Phl p 13	Polygalacturonase	55-60	C	AJ238848

Poa pratensis

Wiesen-Rispengras („Kentucky blue grass“)

Poa p 1	Gruppe I	33	P	46
Poa p 5		31/34	C	34, 47

Sorghum halepense

Aleppohirse („Johnson grass“)

Sor h 1			C	48
---------	--	--	---	----

C. Bäume

Arecales

Phoenix dactylifera

Dattelpalme

Pho d 2	Profilin	14,3	C	Asturias p.c.
---------	----------	------	---	---------------

Fagales

Alnus glutinosa

Erle

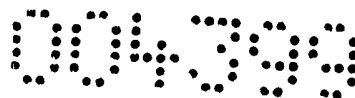
Aln g 1		17	C	S50892
---------	--	----	---	--------

Betula verrucosa

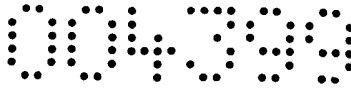
Birke

Bet v 1		17	C	vgl. Liste d. Isoallergene
Bet v 2	Profilin	15	C	M65179

**NACHGEREICHT**

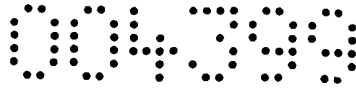


Bet v 3			C	X79267
Bet v 4		8	C	X87153, S54819
Bet v 6 h: Isoflavon-Reduktase		33,5	C	vgl. Liste d. Isoallergene
Bet v 7 Cyclophilin		18	P	P81531
Carpinus betulus				
Hainbuche („hornbeam“)				
Car b 1		17	C	vgl. Liste d. Isoallergene
Castanea sativa				
Ess-Kastanie („Chestnut“)				
Cas s 1		22	P	52
Cas s 5 Chitinase				
Cas s 8 Lipid-Transfer-Protein		9,7	P	53
Corylus avellana				
Hasel				
Cor a 1		17	C	vgl. Liste d. Isoallergene
Cor a 2 Profilin		14	C	
Cor a 8 Lipid-Transfer-Protein		9	C	
Cor a 9 11S Globulin-artiges Protein	40/?		C	Beyer p.c.
Cor a 10 Luminal-bindend. Prot.	70		C	AJ295617
Cor a 11 7S Vicilin-artiges Prot.	48		C	AF441864
Quercus alba				
Weißeiche („White oak“)				
Que a 1		17	P	54
Lamiales				
Oleaceae				
Fraxinus excelsior				
Esche Fra e 1		20	P	58A, AF526295
Ligustrum vulgare				
Liguster („privet“)				
Lig v 1		20	P	58A
Olea europea				
Olive				
Ole e 1		16	C	59, 60
Ole e 2 Profilin		15-18	C	60A
Ole e 3		9,2		60B
Ole e 4		32	P	P80741
Ole e 5 Superoxid-dismutase		16	P	P80740
Ole e 6		10	C	60C, U86342
Ole e 7		?	P	60D, P81430
Ole e 8 Ca <sup>2+</sup> -bind. Protein		21	C	60E, AF078679
Ole e 9 beta-1,3-Glucanase		46	C	AF249675
Ole e 10 Glycosyl-Hydrolase hom.		11	C	60F, AY082335



Syringa vulgaris					
Flieder	Syr v 1	20	P		58A
Plantaginaceae					
Plantago lanceolata					
Spitzwegerich („English plantain“)					
	Pla l 1	18	P		P842242
Pinales					
Cryptomeria japonica					
sugi	Cry j 1	41-45	C		55, 56
	Cry j 2		C		57, D29772
Cupressus arisonica					
Zypresse					
	Cup a 1	43	C		A1243570
Cupressus sempervirens					
Gemeine Zypresse („common cypress“)					
	Cup s 1	43	C		vgl. Liste d. Isoallergene
	Cup s 3w	34	C		Ref. anhängig
Juniperus ashei					
Berg-Zeder („mountain cedar“)					
	Jun a 1	43	P		P81294
	Jun a 2		C		57A, AJ404653
	Jun a 3	30	P		57B, P81295
Juniperus oxycedrus					
Stechwacholder („prickly juniper“)					
	Jun o 4 hom: Calmodulin	29	C		57C, AF031471
Juniperus sabinoides					
Bergzeder („mountain cedar“)					
	Jun s 1	50	P		58
Juniperus virginiana					
Virginische Rotzeder („eastern red cedar“)					
	Jun v 1	43	P		P81825, 58B
Platanaceae					
Platanus acerifolia					
Gewöhnliche Platane („London plane tree“)					
	Pla a 1	18	P		P82817
	Pla a 2	43	P		P82967
	Pla a 3 Lipid-Transfer-Protein	10	P		Iris p.c.
D. Milben					
Acarus siro					
Arthropode					
Milbe	Aca s 13 Fettsäure-bind. Prot.	14*	C		AJ006774

**NACHGEREICHT**



*Blomia tropicalis*

Milbe	Blo t 1 Cystein-Protease	39	C	AF277840
	Blo t 3 Trypsin	24*	C	Cheong p.c.
	Blo t 4 alpha-Amylase	56	C	Cheong p.c.
	Blo t 5		C	U59102
	Blo t 6 Chymotrypsin	25	C	Cheong p.c.
	Blo t 10 Tropomyosin	33	C	61
	Blo t 11 Paramyosin	110	C	AF525465, 61A
	Blo t 12 Bt11a		C	U27479
	Blo t 13 Bt6, Fettsäure-bind. Prot.		C	U58106
	Blo t 19 anti-mikrobiell.Pep. hom.	7,2	C	Cheong p.c.

*Dermatophagoides farinae*

Amerikanische Hausstaubmilbe („American house dust mite“)

Der f 1	Cystein-Protease	25	C	69
Der f 2		14	C	70, 70A, vgl.Liste d. Isoallergene
Der f 3	Trypsin	30	C	63
Der f 7		24-31	C	SW:Q26456, 71
Der f 10	Tropomyosin		C	72
Der f 11	Paramyosin	98	C	72A
Der f 14	mag3, Apolipophorin		C	D17686
Der f 15	98k Chitinase	98	C	AF178772
Der f 16	Gelsolin/Villin	53	C	71A
Der f 17	Ca-bind. EF-Protein	53	C	71A
Der f 18w	60k Chitinase	60	C	Weber p.c.

*Dermatophagoides microceras*

Hausstaubmilbe („house dust mite“)

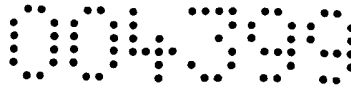
Der m 1	Cystein-Protease	25	P	68
---------	------------------	----	---	----

*Dermatophagoides pteronyssinus*

Europäische Hausstaubmilbe („European house dust mite“)

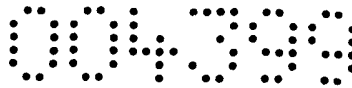
Der p 1-Antigen P1, Cystein-Protease	25	C	62, vgl.Liste d. Isoallergene	
Der p 2	14	C	62A-C, vgl.Liste d. Isoallergene	
Der p 3	Trypsin	28/30	C	63
Der p 4	Amylase	60	P	64
Der p 5		14	C	65
Der p 6	Chymotrypsin	25	P	66
Der p 7		22/28	C	67

**NACHGEREICHT**



Der p 8	Glutathion-Transferase		C	67A	
Der p 9	kollagenolytische Serin-pro.		P	67B	
Der p 10	Tropomyosin	36	C	Y14906	
Der p 14	Apolipophorin-artiges Prot.		C	Epton p.c.	
Euroglyphus maynei					
Milbe	Eur m 2		C	vgl.Liste d.Isoallergene	
	Eur m 14	Apolipophorin	177	C	AF149827
Glycyphagus domesticus					
Vorratsmilbe („storage mite“)					
	Gly d 2		C	72B, vgl. Isoallergenliste	
Lepidoglyphus destructor					
Vorratsmilbe („storage mite“)					
	Lep d 2	Lep d 1	15	C	73, 74, 74A, vgl. Isoallergenliste
	Lep d 5		C	75, AJ250278	
	Lep d 7		C	75, AJ271058	
	Lep d 10	Tropomyosin	C	75A, AJ250096	
	Lep d 13		C	75, AJ250279	
Tyrophagus putrescentiae					
Vorratsmilbe („storage mite“)					
	Tyr p 2		C	75B, Y12690	
E. Tiere					
Bos domesticus					
Hausrind („domestic cattle“)					
	Bos d 2	Ag3, Lipocalin	20	C	76, vgl. Isoallergenliste
(vgl. auch Nahrungsmittel)					
	Bos d 3	Ca-bind. S100 hom.	11	C	L39834
	Bos d 4	alpha-Lactalbumin	14,2	C	M18780
	Bos d 5	beta-Lactoglobulin	18,3	C	X14712
	Bos d 6	Serumalbumin	67	C	M73993
	Bos d 7	Immunglobulin	160		77
	Bos d 8	Caseine	20-30		77
Canis familiaris					
(Canis domesticus)					
	Can f 1		25	C	78, 79
Hund	Can f 2		27	C	78, 79
	Can f 3	Albumin		C	S72946
	Can f 4		18	P	A59491

**NACHGEREICHT**



Equus caballus

Hauspferd („domestic horse“)

Equ c 1	Lipocalin	25	C	U70823
Equ c 2	Lipocalin	18,5	P	79A, 79B
Equ c 3	Ag3 - Albumin	67	C	79C, X74045
Equ c 4		17	P	79D
Equ c 5	AgX	17	P	Goubran Botros p.c.

Felis domesticus

Katze (Speichel)

Fel d 1	cat-1	38	C	15
Fel d 2	Albumin		C	79E, X84842
Fel d 3	Cystatin	11	C	79F, AF238996
Fel d 4	Lipocalin	22	C	AY497902
Fel d 5w	Immunglobulin A	400		Adedoyin p.c.
Fel d 6w	Immunglobulin M	800-1000		Adedoyin p.c.
Fel d 7w	Immunglobulin G	150		Adedoyin p.c.

Cavia porcellus

Meerschweinchen

Cav p 1	Lipocalin-Homolog	20	P	SW:P83507, 80
Cav p 2		17	P	SW:P83508

Mus musculus

Maus (Harn)

Mus m 1	MUP	19	C	81, 81A
---------	-----	----	---	---------

Rattus norvegicus

Ratte (Harn)

Rat n 1		17	C	82, 83
---------	--	----	---	--------

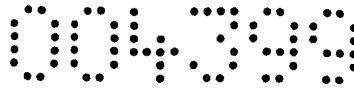
F. Fungi (Schimmelpilze)

1. Ascomycota

1.1 Dothideales

Alternaria alternata

Alt a 1		28	C	U82633
Alt a 2		25	C	83A, U62442
Alt a 3	Hitzeschock-Prot.	70	C	U87807, U87808
Alt a 4	prot. Disulfid-Isomerase	57	C	X84217
Alt a 6	saures ribosomales Prot. P2	11	C	X78222, U87806
Alt a 7	YCP4 Protein	22	C	X78225
Alt a 10	Aldehyd-Dehydrogenase	53	C	X78227, P42041
Alt a 11	Enolase	45	C	U82437
Alt a 12	saures ribosomales Prot. P1	11	C	X84216



Cladosporium herbarum

Cla h 1	13		83B, 83C
Cla h 2	23		83B, 83C
Cla h 3 Aldehyd-Dehydrogenase	53	C	X78228
Cla h 4 saures ribosomales Prot. P2	11	C	X78223
Cla h 5 YCP4 Protein	22	C	X78224
Cla h 6 Enolase	46	C	X78226
Cla h 12 saures ribosomales Prot. P1	11	C	X85180

1.2 Eurotiales

Aspergillus flavus

Asp fl 13 alkalische Serin-Protease	34		84
-------------------------------------	----	--	----

Aspergillus fumigatus

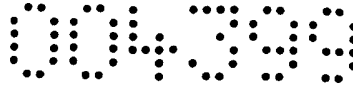
Asp f 1	18	C	M83781, S39330
Asp f 2	37	C	U56938
Asp f 3 peroxisomales Protein	19	C	U20722
Asp f 4	30	C	AJ001732
Asp f 5 Metalloprotease	40	C	Z30424
Asp f 6 Mn-Superoxid-dismut.	26,5	C	U53561
Asp f 7	12	C	AJ223315
Asp f 8 ribosomales Prot. P2	11	C	AJ224333
Asp f 9	34	C	AJ223327
Asp f 10 Asparagin-Protease	34	C	X85092
Asp f 11 Peptidyl-Prolyl-Isomerase	24		84A
Asp f 12 Hitzeschock-Prot. P90	90	C	85
Asp f 13 alkalische Serin-Protease	34		84B
Asp f 15	16	C	AJ002026
Asp f 16	43	C	g3643813
Asp f 17		C	AJ224865
Asp f 18 vakuoläre Serin-Protease	34		84C
Asp f 22w Enolase	46	C	AF284645
Asp f 23 L3 ribosomales Protein	44	C	85A, AF464911

Aspergillus niger

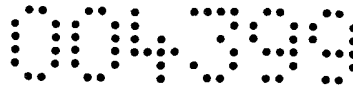
Asp n 14 beta-Xylosidase	105	C	AF108944
Asp n 18 vakuoläre Serin-Protease	34	C	84B
Asp n 25 3-Phytase B	66-100	C	85B, P34754
Asp n ?	85	C	Z84377

Aspergillus oryzae

Asp o 13 alkalische Serin-Protease	34	C	X17561
Asp o 21 TAKA-Amylase A	53	C	D00434, M33218



Penicillium brevicompactum			
Pen b 13 alkalische Serin-Protease	33		86A
Penicillium chrysogenum			
(vormals P. notatum)			
Pen ch 13 alkalische Serin-Protease	34		87
Pen ch 18 vakuoläre Serin-Protease	32		87
Pen ch 20 N-Acetyl-Glucosaminidase	68		87A
Penicillium citrinum			
Pen c 3 peroxisomal. Mem.-Prot.	18		86B
Pen c 13 alkalische Serin-Protease	33		86A
Pen c 19 Hitzeschock-Prot. P70	70	C	U64207
Pen c 22w Enolase	46	C	AF254643
Pen c 24 Elongationsfaktor 1 beta		C	AY363911
Penicillium oxalicum			
Pen o 18 vakuoläre Serin-Protease	34		87B
1.3 Hypocreales			
Fusarium culmorum			
Fus c 1 ribosomales Prot. P2	11*	C	AY077706
Fus c 2 Thioredoxin-artiges Prot.	13*	C	AY077707
1.4 Onygenales			
Trichophyton rubrum			
Tri r 2		C	88
Tri r 4 Serin-Protease		C	88
Trichophyton tonsurans			
Tri t 1	30	P	88A
Tri t 4 Serin-Protease	83	C	88
1.5 Saccharomycetales			
Candida albicans			
Cand a 1	40	C	89
Cand a 3 peroxisomales Protein	29	C	AY136739
Candida boidinii			
Cand b 2	20	C	J04984, J04985
2. Basidiomycotina			
2.1 Hymenomycetes			
Psilocybe cubensis			
Psi c 1			
Psi c 2 Cyclophilin	16		89A
Coprinus comatus			



Schopftintling („shaggy cap“)

Cop c 1	Leucin-Zipper-Protein	11	C	AJ132235
Cop c 2				AJ242791
Cop c 3				AJ242792
Cop c 5				AJ242793
Cop c 7				AJ242794

2.2 Urediniomycetes

Rhodotorula mucilaginosa

Rho m 1	Enolase	47	C	89B
Rho m 2	vakuoläre Serin-Protease	31	C	AY547285

2.3 Ustilaginomycetes

Malassezia furfur

Mala f 2	MF1, peroxisomales Membran-Protein	21	C	AB011804, 90
Mala f 3	MF2, peroxisomales Membran-Protein	20	C	AB011805, 90
Mala f 4	Mitochondrien-Malat- Dehydrogenase	35	C	AF084828, 90A

Malassezia sympodialis

Mala s 1			C	X96486, 91
Mala s 5		18*	C	AJ011955
Mala s 6		17*	C	AJ011956
Mala s 7			C	AJ011957, 91A
Mala s 8		19*	C	AJ011958, 91A
Mala s 9		37*	C	AJ011959, 91A
Mala s 10	Hitzeschock-Prot. 70	86	C	AJ428052
Mala s 11	Mn-Superoxid-Dismut.	23	C	AJ548421

3. Deuteromycotina

3.1 Tuberculariales

Epicoccum purpurascens

(vormals E. nigrum)

Epi p 1	Serin-Protease	30	P	SW:P83340, 91B
---------	----------------	----	---	----------------

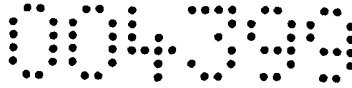
G. Insekten

Aedes aegyptii

Stechmücke

Aed a 1	Apyrase	68	C	L12389
Aed a 2		37	C	M33157

Apis mellifera



Honigbiene

Api m 1	Phospholipase A2	16	C	92
Api m 2	Hyaluronidase	44	C	93
Api m 4	Melittin	3	C	94
Api m 6		7-8	P	Kettner p.c.
Api m 7	CUB Serin-Protease	39	C	AY127579

*Bombus pennsylvanicus*

Hummel („bumble bee“)

Bom p 1	Phospholipase	16	P	95
Bom p 4	Protease		P	95

*Blattella germanica*

Deutsche Schabe

Bla g 1	Bd90k		C	
Bla g 2	Asparagin-Protease	36	C	96
Bla g 4	Calycin	21	C	97
Bla g 5	Glutathion-Transferase	22	C	98
Bla g 6	Troponin C	27	C	98

*Periplaneta americana*

Amerikanische Schabe

Per a 1	Cr-PII		C	
Per a 3	Cr-PI	72-78	C	98A
Per a 7	Tropomyosin	37	C	Y14854

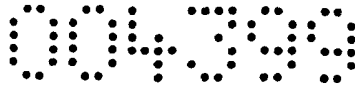
*Chironomus kiiensis*

Mücke	Chi k 10	Tropomyosin	32,5*	C	AJ012184
-------	----------	-------------	-------	---	----------

*Chironomus thummi thummi*

Mücke	Chi t 1-9	Hämoglobin	16	C	99
	Chi t 1.01	Komponente III	16	C	P02229
	Chi t 1.02	Komponente IV	16	C	P02230
	Chi t 2.0101	Komponente I	16	C	P02221
	Chi t 2.0102	Komponente IA	16	C	P02221
	Chi t 3	Komponente II-beta	16	C	P02222
	Chi t 4	Komponente IIIA	16	C	P02231
	Chi t 5	Komponente VI	16	C	P02224
	Chi t 6.01	Komponente VIIA	16	C	P02226
	Chi t 6.02	Komponente IX	16	C	P02223
	Chi t 7	Komponente VIIB	16	C	P02225
	Chi t 8	Komponente VIII	16	C	P02227
	Chi t 9	Komponente X	16	C	P02228

**NACHGEREICHT**



Ctenocephalides felis felis

Katzenfloh

Cte f 1

Cte f 2 Mlb 27 C AF231352

Cte f 3 25 C

Thaumetopoea pityocampa

Pinioprozessionsspinner („pine processionary moth“)

Tha p 1 15 P PIR:A59396, 99A

Lepisma saccharina

Silberfischchen

Lep s 1 Tropomyosin 36 C AJ309202

Dolichovespula maculata

Langkopfwespe („white face hornet“)

Dol m 1 Phospholipase A1 35 C 100

Dol m 2 Hyaluronidase 44 C 101

Dol m 5 Antigen 5 23 C 102, 103

Dolichovespula arenaria

Gelbwespe („yellow hornet“)

Dol a 5 Antigen 5 23 C 104

Polistes annularies

Wespe („wasp“) Pol a 1 Phospholipase A1 35 P 105

Pol a 2 Hyaluronidase 44 P 105

Pol a 5 Antigen 5 23 C 104

Polistes dominulus

(Mittelmeer-Papierwespe („Mediterranean paper wasp“))

Pol d 1 Hoffman p.c.

Pol d 4 Serin-Protease 32-34 C Hoffman p.c.

Pol d 5 P81656

Polistes exclamans

Wespe („wasp“) Pol e 1 Phospholipase A1 34 P 107

Pol e 5 Antigen 5 23 C 104

Polistes fuscatus

Wespe („wasp“) Pol f 5 Antigen 5 23 C 106

Polistes gallicus

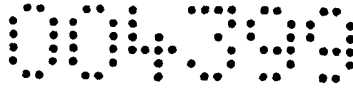
Wespe („wasp“) Pol g 5 Antigen 5 24 C P83377

Polistes metricus

Wespe („wasp“) Pol m 5 Antigen 5 23 C 106

Vespa crabro

**NACHGEREICHT**



Europäische Hornisse („European hornet“)

Vesp c 1 Phospholipase	34	P	107
Vesp c 5 Antigen 5	23	C	106

Vespa mandarina

Asiatische Riesenhornisse („giant Asian hornet“)

Vesp m 1			Hoffman p.c.
Vesp m 5			P81657

Vespula flavopilosa

Wespe („yellowjacket“) Ves f 5 Antigen 5	23	C	106
--	----	---	-----

Vespula germanica

Wespe („yellowjacket“) Ves g 5 Antigen 5	23	C	106
--	----	---	-----

Vespula maculifrons

Wespe („yellowjacket“)

Ves m 1 Phospholipase A1	33,5	C	108
Ves m 2 Hyaluronidase	44	P	109
Ves m 5 Antigen 5	23	C	104

Vespula pennsylvanica

Wespe („yellowjacket“)

Ves p 5 Antigen 5	23	C	106
-------------------	----	---	-----

Vespula squamosa

Wespe („yellowjacket“)

Ves s 5 Antigen 5	23	C	106
-------------------	----	---	-----

Vespula vidua

Wespe („wasp“) Ves vi 5 Antigen 5	23	C	106
-----------------------------------	----	---	-----

Vespula vulgaris

Wespe („yellowjacket“)

Ves v 1 Phospholipase A1	35	C	105A
Ves v 2 Hyaluronidase	44	P	105A
Ves v 5 Antigen 5	23	C	104

Myrmecia pilosula

Australische „jumper ant“

Myr p 1		C	X70256
Myr p 2		C	S81785

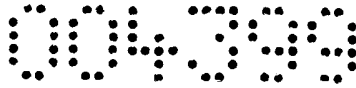
Solenopsis geminata

tropische Feuerameise („tropical fire ant“)

Sol g 2			Hoffman p.c.
Sol g 4			Hoffman p.c.

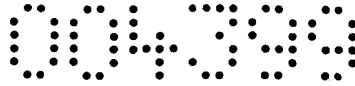
Solenopsis invicta

**NACHGEREICHT**



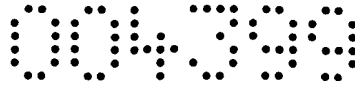
Feuerameise („fire ant“)	Sol i 2		13	C	110, 111
	Sol i 3		24	C	110
	Sol i 4		13	C	110
Solenopsis saevissima					
Brasilianische Feuerameise („Brazilian fire ant“)					
	Sol s 2				Hoffman p.c.
Triatoma protracta					
Raubwanze („California kissing bug“)					
	Tria p 1	Procalin	20	C	AF179004, 111A.
H. Nahrungsmittel					
Gadus callarias					
Dorsch („cod“)					
	Gad c 1	Allergen M	12	C	112, 113
Salmo salar					
Atlantischer Lachs					
	Sal s 1	Parvalbumin	12	C	X97824
Bos domesticus					
Hausrind („domestic cattle“)					
	Bos d 4	alpha-Lactalbumin	14,2	C	M18780
(Milch)	Bos d 5	beta-Lactoglobulin	18,3	C	X14712
vgl. auch Tiere					
	Bos d 6	Serum-Albumin	67	C	M73993
	Bos d 7	Immunglobulin	160		77
	Bos d 8	Caseine	20-30		77
Gallus domesticus					
Huhn					
	Gal d 1	Ovomucoid	28	C	114, 115
	Gal d 2	Ovalbumin	44	C	114, 115
	Gal d 3	Ag22, Conalbumin	78	C	114, 115
	Gal d 4	Lysozym	14	C	114, 115
	Gal d 5	Serum-Albumin	69	C	X60688
Metapenaeus ensis					
Garnele	Met e 1	Tropomyosin		C	U08008
Penaeus aztecus					
Garnele	Pen a 1	Tropomyosin	36	P	116
Penaeus indicus					
Garnele	Pen i 1	Tropomyosin	34	C	116A
Penaeus monodon					

**NACHGEREICHT**



Black Tiger-Garnele					
	Pen m 1	Tropomyosin	38	C	
	Pen m 2	Arginin-Kinase	40	C	AF479772, 117
Todarodes pacificus					
Kalmar („squid“)	Tod p 1	Tropomyosin	38	P	117A
Helix aspersa					
Braune Gartenschnecke („brown garden snail“)					
	Hel as 1	Tropomyosin	36	C	Y14855, 117B
Haliotis midae					
Seeohr („abalone“)					
	Hal m 1		49		117C
Rana esculenta					
essbarer Frosch					
	Ran e 1	Parvalbumin-alpha	11,9*	C	AJ315959
	Ran e 2	Parvalbumin-beta	11,7*	C	AJ414730
Brassica juncea					
Sereptasenf („oriental mustard“)					
	Bra j 1	2S Albumin	14	C	118
Brassica napus					
Rapssamen („rapeseed“)					
	Bra n 1	2S Albumin	15	P	118A, P80208
Brassica rapa					
Rübe („turnip“)					
	Bra r 2	hom: Prohevein	25		P81729
Hordeum vulgare					
Gerste					
	Hor v 15	BMAI-1	15	C	119
	Hor v 16	alpha-Amylase			
	Hor v 17	beta-Amylase			
	Hor v 21	gamma-3 Hordein	34	C	119A, SW:P80198
Secale cereale					
Roggen					
	Sec c 20	Secalin			vgl. Isoallergenliste
Triticum aestivum					
Weizen					
	Tri a 18	Agglutinin			
	Tri a 19	omega-5 Gliadin	65	P	PIR:A59156
Zea mays					
Mais („maize, corn“)					
	Zea m 14	Lipid-Transfer-Prot.	9	P	P19656
Oryza sativa					
Reis					
	Ory s 1			C	119B, U31771

**NACHGEREICHT**



*Apium graveolens*

Sellerie	Api g 1	hom: Bet v 1	16*	C	Z48967
	Api g 4	Profilin			AF129423
	Api g 5		55/58	P	P81943

*Daucus carota*

Karotte	Dau c 1	hom: Bet v 1	16	C	117D, vgl. Isoallergen- liste
	Dau c 4	Profilin		C	AF456482

*Corylus avellana*

Haselnuss

	Cor a 1.04	hom: Bet v 1	17	C	vgl. Liste d. Isoallergene
	Cor a 2	Profilin	14	C	AF327622
	Cor a 8	Lipid-Transfer-Protein	9	C	AF329829

*Malus domestica*

Apfel	Mal d 1	hom: Bet v 1		C	vgl. Liste d. Isoallergene
	Mal d 2	hom: Thaumatin		C	AJ243427
	Mal d 3	Lipid-Transfer-Protein	9	C	Pastorello p.c.
	Mal d 4	Profilin	14,4*	C	vgl. Liste d. Isoallergene

*Pyrus communis*

Birne	Pyr c 1	hom: Bet v 1	18	C	AF05730
	Pyr c 4	Profilin	14	C	AF129424
	Pyr c 5	hom: Isoflavon-Reduktase	33,5	C	AF071477

*Persea americana*

Avocado	Pers a 1	Endochitinase	32	C	Z78202
---------	----------	---------------	----	---	--------

*Prunus armeniaca*

Aprikose

	Pru ar 1	hom: Bet v 1		C	U93165
	Pru ar 3	Lipid-Transfer-Protein	9	P	

*Prunus avium*

Süßkirsche

	Pru av 1	hom: Bet v 1		C	U66076
	Pru av 2	hom: Thaumatin		C	U32440
	Pru av 3	Lipid-Transfer-Protein	10	C	AF221501
	Pru av 4	Profilin	15	C	AF129425

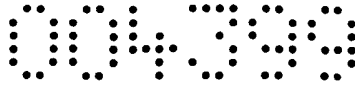
*Prunus domestica*

Europäische Pflaume („European plum“)

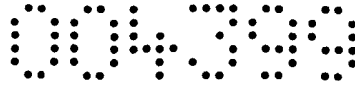
	Pru d 3	Lipid-Transfer-Protein	9	P	119C
--	---------	------------------------	---	---	------

*Prunus persica*

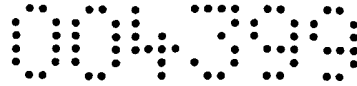
**NACHGEREICHT**



Pfirsich	Pru p 3 Lipid-Transfer-Protein	10	P	P81402
	Pru p 4 Profilin	14	C	vgl. Isoallergenliste
Asparagus officinalis				
Spargel	Aspa o 1 Lipid-Transfer-Protein	9	P	119D
Crocus sativus				
Safran („saffron crocus“)	Cro s 1	21		Varasteh A-R p.c.
Lactuca sativa				
Salat	Lac s 1 Lipid-Transfer-Protein	9		Vieths p.c.
Vitis vinifera				
Traube	Vit v 1 Lipid-Transfer-Protein	9	P	P80274
Musa x paradisiaca				
Banane	Mus xp 1 Profilin	15	C	AF377948
Ananas comosus				
Ananas („pineapple“)	Ana c 1 Profilin	15	C	AF377949
	Ana c 2 Bromelain	22,8*	C	119E-G, D14059
Citrus limon				
Zitrone	Cit l 3 Lipid-Transfer-Protein	9	P	Torrejon p.c.
Citrus sinensis				
Orange („sweet orange“)	Cit s 1 Germin-artiges Protein	23	P	Torrejon p.c.
	Cit s 2 Profilin	14	P	Torrejon p.c.
	Cit s 3 Lipid-Transfer-Protein	9	P	Torrejon p.c.
Litchi chinensis				
Litchi	Lit c 1 Profilin	15	C	AY049013
Sinapis alba				
gelber Senf („yellow mustard“)	Sin a 1 2S Albumin	14	C	120
Glycine max				
Sojabohne	Gly m 1 HPS	7	P	120A
	Gly m 2	8	P	A57106
	Gly m 3 Profilin	14	C	vgl. Liste d. Isoallergene
	Gly m 4 (SAM22) PR-10 Prot.	17	C	X60043, 120B
Vigna radiata				
Mungbohne	Vig r 1 PR-10 Protein	15	C	AY792956
Arachis hypogaea				



Erdnuss	Ara h 1	Vicilin	63,5	C	L34402
	Ara h 2	Conglutin	17	C	L77197
	Ara h 3	Glycinin	60	C	AF093541
	Ara h 4	Glycinin	37	C	AF086821
	Ara h 5	Profilin	15	C	AF059616
	Ara h 6	hom: Conglutin	15	C	AF092846
	Ara h 7	hom: Conglutin	15	C	AF091737
	Ara h 8	PR-10 Protein	17	C	AY328088
Lens culinaris					
Linse	Len c 1	Vicilin	47	C	vgl. Liste d. Isoallergene
	Len c 2	Samen biotinyliertes Prot.	66	P	120C
Pisum sativum					
Erbse	Pis s 1	Vicilin	44	C	vgl. Liste d. Isoallergene
	Pis s 2	Convicilin	63	C	anhängig
Actinidia chinensis					
Kiwi	Act c 1	Cystein-Protease	30	P	P00785
	Act c 2	Thaumatococin-artiges Protein	24	P	SW:P81370, 121
Capsicum annuum					
Paprika („bell pepper“)					
	Cap a 1w	Osmotin-artiges Protein	23	C	AJ297410
	Cap a 2	Profilin	14	C	AJ417552
Lycopersicon esculentum					
Tomate	Lyc e 1	Profilin	14	C	AJ417553
	Lyc e 2	b-Fructofuranosidase	50	C	vgl. Isoallergenliste
	Lyc e 3	Lipid-Transfer-Prot.	6	C	U81996
Solanum tuberosum					
Kartoffel	Sola t 1	Patatin	43	P	P15476
	Sola t 2	Cathepsin D-Inhibitor	21	P	P16348
	Sola t 3	Cystein-Protease-Inhibitor	21	P	P20347
	Sola t 4	Asparagin-Protease-Inhibitor	16+4	P	P30941
Bertholletia excelsa					
Paranuss („Brazil nut“)					
	Ber e 1 2S	Albumin	9	C	P04403, M17146
	Ber e 2 11S	Globulin-Samen-Speicherprotein	29	C	AY221641
Juglans nigra					
Schwarznuß („black walnut“)					
	Jug n 1 2S	Albumin	19*	C	AY102930
	Jug n 2	Vicilin-artiges Prot.	56*	C	AY102931



Juglans regia

Echte Walnuss („English walnut“)

Jug r 1	2S Albumin		C	U66866
Jug r 2	Vicilin	44	C	AF066055
Jug r 3	Lipid-Transfer-Protein	9	P	Pastorello

Anacardium occidentale

Cashew-Nuss	Ana o 1	Vicilin-artiges Protein	50	C	vgl. Isoallergen-Liste
	Ana o 2	Legumin-artiges Protein	55	C	AF453947
	Ana o 3	2S Albumin	14	C	AY081853

Ricinus communis

Rhizinussamen („Castor bean“)

Ric c 1	2S Albumin		C	P01089
---------	------------	--	---	--------

Sesamum indicum

Sesam	Ses i 1	2S Albumin	9	C	121A, AF240005
	Ses i 2	2S Albumin	7	C	AF091841
	Ses i 3	7S Vicilin-artiges Globulin	45	C	AF240006
	Ses i 4	Oleosin	17	C	AAG23840
	Ses i 5	Oleosin	15	C	AAD42942

Cucumis melo

Kantaloupmelone („muskmelon“)

Cuc m 1	Serin-Protease	66	C	D32206
Cuc m 2	Profilin	14	C	AY271295
Cuc m 3	Pathogenese-verw. P. PR-1	16*	P	P83834

I. Andere

Anisakis simplex

Nematode

Ani s 1		24	P	121B, A59069
Ani s 2	Paramyosin	97	C	AF173004
Ani s 3	Tropomyosin	41	C	121C, Y19221
Ani s 4		9	P	P83885

Argas reflexus

Taubenzecke („pigeon tick“)

Arg r 1		17	C	AJ697694
---------	--	----	---	----------

Ascaris suum

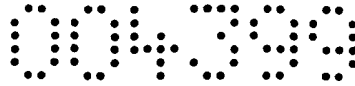
Wurm	Asc s 1	10	P	122
------	---------	----	---	-----

Carica papaya

Papaya	Car p 3w	Papain	23,4*	C	122A, M15203
--------	----------	--------	-------	---	--------------

Dendronephthya nipponica

**NACHGEREICHT**



Weichkoralle („soft coral“)

Den n 1 53 P 122B

Hevea brasiliensis

Gummi (Latex)

Hev b 1	Elongationsfaktor	58	P	123, 124
Hev b 2	1,3-Glucanase	34/36	C	125
Hev b 3		24	P	126, 127
Hev b 4	Komponente des Microhelix-Komplexes	100- 115	P	128
Hev b 5		16	C	U42640
Hev b 6.01	Hevein-Präkursor	20	C	M36986, p02877
Hev b 6.02	Hevein	5	C	M36986, p02877
Hev b 6.03	C-terminales Fragment	14	C	M36986, p02877
Hev b 7.01	hom: Patatin aus B-Serum	42	C	U80598
Hev b 7.02	hom: Patatin aus C-Serum	44	C	AJ223038
Hev b 8	Profilin	14	C	vgl. Liste d. Isoallergene
Hev b 9	Enolase	51	C	AJ132580
Hev b 10	Mn Superoxid-dismut.	26	C	vgl. Liste d. Isoallergene
Hev b 11	Klasse 1-Chitinase		C	vgl. Liste d. Isoallergene
Hev b 12	Lipid-Transfer-Protein	9,3	C	AY057860
Hev b 13	Esterase	42	P	P83269

Homo sapiens

Human-Autoallergene

Hom s 1		73*	C	Y14314
Hom s 2		10,3*	C	X80909
Hom s 3		20,1*	C	X89985
Hom s 4		36*	C	Y17711
Hom s 5		42,6*	C	P02538

Triplochiton scleroxylon

Abachi („obeche“)

Trip s 1 Klasse 1-Chitinase 38,5 P Kespohl p.c.

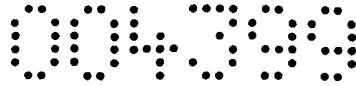
Literaturstellen:

1 Marsh, D.G., und L.R. Freidhoff. 1992. ALBE, an allergen database. IUIS, Baltimore, MD, Edition 1.0.

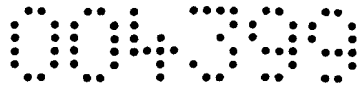
2 Marsh, D. G., L. Goodfriend, T. P. King, H. Lowenstein, und T. A. E. Platts-Mills. 1986. Allergen nomenclature. Bull WHO 64:767-770.

3 King, T.P., P.S. Norman, und J.T. Cornell. 1964. Isolation and characterisation of allergen from ragweed pollen. II. Biochemistry 3:458-468.

**NACHGEREICHT**



- 4 Lowenstein, H. 1980. Timothy pollen allergens. *Allergy* 35:188-191.
- 5 Aukrust, L. 1980. Purification of allergens in *Cladosporium herbarum*. *Allergy* 35:206-207.
- 6 Demerec, M., E. A. Adelberg, A. J. Clark, und P. E. Hartman. 1966. A proposal for a uniform nomenclature in bacterial genetics. *Genetics* 54:61-75.
- 7 Bodmer, J. G., E. D. Albert, W. F. Bodmer, B. Dupont, H. A. Erlich, B. Mach, S. G. E. Marsh, W. R. Mayr, P. Parham, T. Sasuki, G. M. Th. Schreuder, J. L. Strominger, A. Svejgaard, und P. I. Terasaki. 1991. Nomenclature for factors of the HLA system, 1990. *Immunogenetics* 33:301-309.
- 8 Griffith, I.J., J. Pollock, D.G. Klapper, B.L. Rogers, und A.K. Nault. 1991. Sequence polymorphism of Amb a I and Amb a II, the major allergens in *Ambrosia artemisiifolia* (short ragweed). *Int. Arch. Allergy Appl. Immunol.* 96:296-304.
- 9 Roebber, M., D. G. Klapper, L. Goodfriend, W. B. Bias, S. H. Hsu, und D. G. Marsh. 1985. Immunochemical and genetic studies of Amb t V (Ra5G), an Ra5 homologue from giant ragweed pollen. *J. Immunol.* 134:3062-3069.
- 10 Metzler, W. J., K. Valentine, M. Roebber, M. Friedrichs, D. G. Marsh, und L. Mueller. 1992. Solution structures of ragweed allergen Amb t V. *Biochemistry* 31:5117-5127.
- 11 Metzler, W. J., K. Valentine, M. Roebber, D. G. Marsh, und L. Mueller. 1992. Proton resonance assignments and three-dimensional solution structure of the ragweed allergen Amb a V by nuclear magnetic resonance spectroscopy. *Biochemistry* 31:8697-8705.



12 Goodfriend, L., A.M. Choudhury, J. Del Carpio, und T.P. King. 1979. Cytochromes C: New ragweed pollen allergens. Fed. Proc. 38:1415.

13 Ekramoddoullah, A. K. M., F. T. Kisil, und A. H. Schon. 1982. Allergenic cross reactivity of cytochrome c from Kentucky bluegrass and perennial ryegrass pollens. Mol. Immunol. 19:1527-1534.

14 Ansari, A. A., E. A. Killoran, und D. G. Marsh. 1987. An investigation of human response to perennial ryegrass (*Lolium perenne*) pollen cytochrome c (Lol p X). J. Allergy Clin. Immunol. 80:229-235.

15 Morgenstern, J.P., I.J. Griffith, A.W. Brauer, B.L. Rogers, J.F. Bond, M.D. Chapman, und M. Kuo. 1991. Amino acid sequence of Fel d I, the major allergen of the domestic cat: protein sequence analysis and cDNA cloning. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 88:9690-9694.

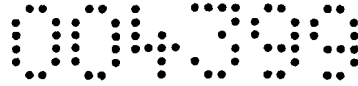
16 Griffith, I.J., S. Craig, J. Pollock, X. Yu, J.P. Morgens-  
tern, und B.L.Rogers. 1992. Expression and genomic structure of the genes encoding FdI, the major allergen from the domestic cat. Gene 113:263-268.

17 Weber, A., L. Marz, und F. Altmann. 1986. Characteristics of the asparagine-linked oligosaccharide from honey-bee venom phospholipase A2. Comp. Biochem. Physiol. 83B:321-324.

18 Weber, A., H. Schroder, K. Thalberg, und L. Marz. 1987. Specific interaction of IgE antibodies with a carbohydrate epitope of honey bee venom phospholipase A2. Allergy 42:464-470.

19 Stanworth, D. R., K. J. Dorrington, T. E. Hugli, K. Reid, und M. W. Turner. 1990. Nomenclature for synthetic peptides re-

**NACHGEREICHT**



representative of immunoglobulin chain sequences. Bulletin WHO 68:109-111.

20 Rafnar, T., I. J. Griffith, M. C. Kuo, J. F. Bond, B. L. Rogers, und D.G. Klapper. 1991. Cloning of Amb a I (Antigen E), the major allergen family of short ragweed pollen. J. Biol. Chem. 266: 1229-1236.

21 Rogers, B.L., J.P. Morgenstern, I.J. Griffith, X.B. Yu, C.M. Counsell, A.W. Brauer, T.P. King, R.D. Garman, und M.C. Kuo. 1991. Complete sequence of the allergen Amb a II: recombinant expression and reactivity with T cells from ragweed allergic patients. J. Immunol. 147:2547-2552.

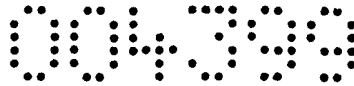
22 Klapper, D.G., L. Goodfriend, und J.D. Capra. 1980. Amino acid sequence of ragweed allergen Ra3. Biochemistry 19:5729-5734.

23 Ghosh, B., M.P. Perry, T. Rafnar, und D.G. Marsh. 1993. Cloning and expression of immunologically active recombinant Amb a V allergen of short ragweed (*Ambrosia artemisiifolia*) pollen. J. Immunol. 150:5391-5399.

24 Roebber, M., R. Hussain, D. G. Klapper, und D. G. Marsh. 1983. Isolation and properties of a new short ragweed pollen allergen, Ra6. J. Immunol. 131:706-711.

25 Lubahn, B., und D.G. Klapper. 1993. Cloning and characterisation of ragweed allergen Amb a VI (abst). J. Allergy Clin. Immunol. 91:338.

26 Roebber, M., und D.G. Marsh. 1991. Isolation and characterisation of allergen Amb a VII from short ragweed pollen. J. Allergy Clin. Immunol. 87:324.



27 Goodfriend L, Choudhury AM, Klapper DG, Coulter KM, Dorval G, DelCarpio J, Osterland CK. Ra5G, a homologue of Ra5 in giant ragweed pollen: isolation, HLA-DR-associated activity and amino acid sequence. *Mol Immunol* 22: 899-906, 1985.

28 Himly M, Jahn-Schmid B, Dedic A, Kelemen P, Wopfner N, Altmann F, van Ree R, Brisa P, Richter K, Ebner C, Ferreira F. Art v 1, the major allergen of mugwort pollen, is a modular glycoprotein with a defensin-like and a hydroxyproline-rich domain. *FASEB J* 17: 106-108, 2003.

28A Nilsen, B. M., K. Sletten, M. O'Neill, B. Smestead Paulsen, und H. van Halbeek. 1991. Structural analysis of the glycoprotein allergen Art v II from pollen of mugwort (*Artemesia vulgaris*). *J. Biol. Chem.* 266:2660-2668.

29 Wopfner N, Willeroidee M, Hebenstreit D, van Ree R, Aalbers M, Brisa P, Thalhamer J, Ebner C, Richter K, Ferreira F. Molecular and immunological characterisation of profilin from mugwort pollen. *Biol Chem* 383: 1779-1789, 2002.

29A Jimenez A, Moreno C, Martinez J, Martinez A, Bartolome B, Guerra F, Palacios R 1994. Sensitisation to sunflower pollen: only an occupational allergy? *Int Arch Allergy Immunol* 105:297-307.

29B Barderas R, Villalba M, Lombardero M, Rodriguez R. Identification and characterisation of Che a 1 allergen from *Chenopodium album* pollen. *Int Arch Allergy Immunol* 127: 47-54, 2002.

29C Carnés J, Fernández-Caldas E, Casanovas M, Lahoz C, Colás C. Immunochemical characterisation of *Salsola kali* pollen extracts. *Allergy* 56, Supplement 68: 274, 2001.

29D Giuliani A, Pini C, Bonini S, Mucci N, Ferroni L, Vicari G: Isolation and purification of a major allergen from *Parietaria officinalis* pollen. *Allergy* 42: 434-440, 1987.

30 Smith, P.M., Suphioglu, C., Griffith, I.J., Theriault, K., Knox, R.B. und Singh, M.B. 1996. Cloning and expression in yeast *Pichia pastoris* of a biologically active form of Cyn d 1, the major allergen of Bermuda grass pollen. *J. Allergy Clin. Immunol.* 98:331-343.

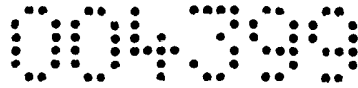
31 Suphioglu, C., Ferreira, F. und Knox, R.B. 1997. Molecular cloning and immunological characterisation of Cyn d 7, a novel calcium-binding allergen from Bermuda grass pollen. *FEBS Lett.* 402:167-172.

31a Asturias JA, Arilla MC, Gomez-Bayon N, Martinez J, Martinez A, und Palacios R. 1997. Cloning and high level expression of *Cynodon dactylon* (Bermuda grass) pollen profilin (Cyn d 12) in *Escherichia coli*: purification and characterisation of the allergen. *Clin Exp Allergy* 27:1307-1313.

32 Mecheri, S., G. Peltre, und B. David. 1985. Purification and characterisation of a major allergen from *Dactylis glomerata* pollen: The Ag Dg 1. *Int. Arch. Allergy Appl. Immunol.* 78:283-289.

33 Roberts, A.M., L.J. Bevan, P.S. Flora, I. Jepson, und M.R. Walker. 1993. Nucleotide sequence of cDNA encoding the Group II allergen of Cocksfoot/Orchard grass (*Dactylis glomerata*), Dac g II. *Allergy* 48:615-623.

33a Guerin-Marchand, C., Senechal, H., Bouin, A.P., Leduc-Brodard, V., Taudou, G., Weyer, A., Peltre, G. und David, B. 1996. Cloning, sequencing and immunological characterisation of Dac g 3, a major allergen from *Dactylis glomerata* pollen. *Mol. Immu-*



nol. 33:797-806.

34 Klysner, S., K. Welinder, H. Lowenstein, und F. Matthiesen. 1992. Group V allergens in grass pollen IV. Similarities in amino acid compositions and amino terminal sequences of the group V allergens from *Lolium perenne*, *Poa pratensis* and *Dactylis glomerata*. *Clin. Exp. Allergy* 22: 491-497.

35 Perez, M., G. Y. Ishioka, L. E. Walker, und R. W. Chesnut. 1990. cDNA cloning and immunological characterisation of the rye grass allergen Lol p I. *J. Biol. Chem.* 265:16210-16215.

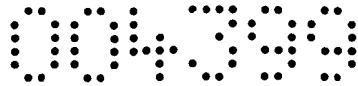
36 Griffith, I. J., P. M. Smith, J. Pollock, P. Theerakulpisut, A. Avjioglu, S. Davies, T. Hough, M. B. Singh, R. J. Simpson, L. D. Ward, und R. B. Knox. 1991. Cloning and sequencing of Lol p I, the major allergenic protein of rye-grass pollen. *FEBS Letters* 279:210-215.

37 Ansari, A. A., P. Shenbagamurthi, und D.G. Marsh. 1989. Complete amino acid sequence of a *Lolium perenne* (perennial rye grass) pollen allergen, Lol p II. *J. Biol. Chem.* 264:11181-11185.

37a Sidoli, A., Tamborini, E., Giuntini, I., Levi, S., Volonte, G., Paini, C., De Lalla, C., Siccardi, A.G., Baralle, F.E., Galliani, S. und Arosio, P. 1993. Cloning, expression, and immunological characterisation of recombinant *Lolium perenne* allergen Lol p II. *J. Biol. Chem.* 268:21819-21825.

38 Ansari, A. A., P. Shenbagamurthi, und D. G. Marsh. 1989. Complete primary structure of a *Lolium perenne* (perennial rye grass) pollen allergen, Lol p III: Comparison with known Lol p I and II sequences. *Biochemistry* 28:8665-8670.

39 Singh, M. B., T. Hough, P. Theerakulpisut, A. Avjioglu, S.



Davies, P. M. Smith, P. Taylor, R. J. Simpson, L. D. Ward, J. McCluskey, R. Puy, und R.B. Knox. 1991. Isolation of cDNA encoding a newly identified major allergenic protein of rye-grass pollen: Intracellular targeting to the amyloplast. Proc. Natl. Acad. Sci. 88:1384-1388.

39a van Ree R, Hoffman DR, van Dijk W, Brodard V, Mahieu K, Koeleman CA, Grande M, van Leeuwen WA, Aalberse RC. 1995. Lol p XI, a new major grass pollen allergen, is a member of a family of soybean trypsin inhibitor-related proteins. J Allergy Clin Immunol 95:970-978.

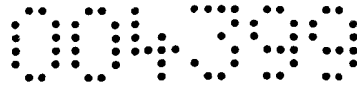
40 Suphioglu, C. und Singh, M.B. 1995. Cloning, sequencing and expression in Escherichia coli of Pha a 1 and four isoforms of Pha a 5, the major allergens of canary grass pollen. Clin. Exp. Allergy 25:853-865.

41 Dolecek, C., Vrtala, S., Laffer, S., Steinberger, P., Kraft, D., Scheiner, O. und Valenta, R. 1993. Molecular characterisation of Phl p II, a major timothy grass (Phleum pratense) pollen allergen. FEBS Lett. 335:299-304.

41A Fischer S, Grote M, Fahlbusch B, Muller WD, Kraft D, Valenta R. 1996. Characterisation of Phl p 4, a major timothy grass (Phleum pratense) pollen allergen. J Allergy Clin Immunol 98:189-198.

42 Matthiesen, F., und H. Lowenstein. 1991. Group V allergens in grass pollens. I. Purification and characterisation of the group V allergen from Phleum pratense pollen, Phl p V. Clin. Exp. Allergy 21:297-307.

43 Petersen, A., Bufe, A., Schramm, G., Schlaak, M. und Becker, W.M. 1995. Characterisation of the allergen group VI in timothy grass pollen (Phl p 6). II. cDNA cloning of Phl p 6 and structural



comparison to grass group V. Int. Arch. Allergy Immunol. 108:55-59.

43A Marknell DeWitt A, Niederberger V, Lehtonen P, Spitzauer S, Sperr WR, Valent P, Valenta R, Lidholm J. Molecular and immunological characterisation of a novel timothy grass (*Phleum pratense*) pollen allergen, Phl p 11. Clin Exp Allergy 32: 1329-1340, 2002.

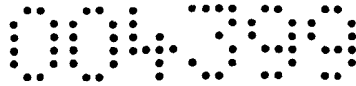
44 Valenta, R., Ball, T., Vrtala, S., Duchene, M., Kraft, D. und Scheiner, O. 1994. cDNA cloning and expression of timothy grass (*Phleum pratense*) pollen profilin in *Escherichia coli*: comparison with birch pollen profilin. Biochem. Biophys. Res. Commun. 199:106-118.

46 Esch, R. E., und D. G. Klapper. 1989. Isolation and characterisation of a major cross-reactive grass group I allergenic determinant. Mol. Immunol. 26:557-561.

47 Olsen, E., L. Zhang, R. D. Hill, F. T. Kisil, A. H. Schon, und S. Mohapatra. 1991. Identification and characterisation of the *Poa p* IX group of basic allergens of Kentucky bluegrass pollen. J. Immunol. 147:205-211.

48 Avjioglu, A., M. Singh, und R.B. Knox. 1993. Sequence analysis of *Sor h* I, the group I allergen of Johnson grass pollen and its comparison to rye-grass *Lol p* I (abst). J. Allergy Clin. Immunol. 91:340.

52 Kos T, Hoffmann-Sommergruber K, Ferreira F, Hirschwehr R, Ahorn H, Horak F, Jager S, Sperr W, Kraft D, Scheiner O. 1993. Purification, characterisation and N-terminal amino acid sequence of a new major allergen from European chestnut pollen--Cas s 1. Biochem Biophys Res Commun 196:1086-92.



53 Díaz-Perales A, Lombardero M, Sánchez-Monge R, García-Sellés FJ, Pernas M, Fernández-Rivas M, Barber D, Salcedo G. 2000. Lipid-transfer proteins as potential plant panallergens: cross-reactivity among proteins of *Artemisia* pollen, *Castanea* nut and *Rosaceae* fruits, with different IgE-binding capacities. *Clin Exp Allergy* 30:1403-1410.

54 Ipsen, H., und O.C. Hansen. 1991. The NH<sub>2</sub>-terminal amino acid sequence of the immunochemically partial identical major allergens of alder (*Alnus glutinosa*) Aln g I, birch (*Betula verrucosa*) Bet v I, hornbeam (*Carpinus betulus*) Car b I and oak (*Quercus alba*) Que a I pollens. *Mol. Immunol.* 28: 1279-1288.

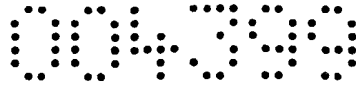
55 Taniai, M., S. Ando, M. Usui, M. Kurimoto, M. Sakaguchi, S. Inouye, und T. Matuhasi. 1988. N-terminal amino acid sequence of a major allergen of Japanese cedar pollen (Cry j I). *FEBS Lett.* 239:329-332.

56 Griffith, I.J., A. Lussier, R. Garman, R. Koury, H. Yeung, und J. Pollock. 1993. The cDNA cloning of Cry j I, the major allergen of *Cryptomeria japonica* (Japanese cedar) (abst). *J. Allergy Clin. Immunol.* 91:339.

57 Sakaguchi, M., S. Inouye, M. Taniai, S. Ando, M. Usui, und T. Matuhasi. Identification of the second major allergen of Japanese cedar pollen. *Allergy* 45: 309-312, 1990.

57A Yokoyama M, Miyahara M, Shimisu K, Kino K, Tsunoo H. Purification, identification, and cDNA cloning of Jun a 2, the second major allergen of mountain cedar pollen. *Biochem Biophys Res Commun* 275: 195-202, 2000.

57B Midoro-Horiuti T, Goldblum RM, Kurosky A, Wood TG, Brooks EG. Variable Expression of Pathogenesis-Related Protein Allergen in Mountain Cedar (*Juniperus ashei*) Pollen. *J Immunol* 164: 2188-



2192, 2000.

57C Tinghino R., Barletta B., Palumbo S., Afferni C., Iacovacci P., Mari A., Di Felice G., Pini, C. Molecular characterisation of a cross-reactive *Juniperus oxycedrus* pollen allergen, Jun o 2: a novel calcium-binding allergen *J. Allergy Clin. Immunol.* 101: 772-777, 1998.

58 Gross GN, Zimburean JM, Capra JD. Isolation and partial characterisation of the allergen in mountain cedar pollen. *Scand J Immunol* 8: 437-441, 1978.

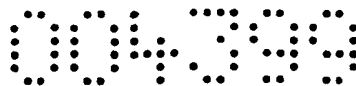
58A Obispo TM, Melero JA, Carpiso JA, Carreira J, Lombardero M. The main allergen of *Olea europaea* (Ole e I) is also present in other species of the oleaceae family. *Clin Exp Allergy* 23: 311-316, 1993.

58B Midoro-Horiuti T, Goldblum RM, Brooks EG. Identification of mutations in the genes for the pollen allergens of eastern red cedar (*Juniperus virginiana*). *Clin Exp Allergy* 31: 771-778, 2001.

59 Lombardero M., Barbas J.A., Moscoso del Prado J., Carreira J. cDNA sequence analysis of the main olive allergen, Ole e I. *Clin. Exp. Allergy* 24: 765-770, 1994.

60 Villalba, M., E. Batanero, C. Lopez-Otin, L.M. Sanchez, R.I. Monsalve, M.A. Gonzalez de la Pena, C. Lahoz, und R. Rodriguez. Amino acid sequence of Ole e I, the major allergen from olive tree pollen (*Olea europaea*). *Eur. J. Biochem.* 216: 863-869, 1993.

60A Asturias JA, Arilla MC, Gomez-Bayon N, Martinez J, Martinez A, Palacios R. Cloning and expression of the panallergen profilin and the major allergen (Ole e 1) from olive tree pollen. *J*



Allergy Clin Immunol 100: 365-372, 1997.

60B Batanero E, Villalba M, Ledesma A, Puente XS, Rodriguez R. Ole e 3, an olive-tree allergen, belongs to a widespread family of pollen proteins. Eur J Biochem 241: 772-778, 1996.

60C Batanero E, Ledesma A, Villalba M, Rodriguez R. Purification, amino acid sequence and immunological characterisation of Ole e 6, a cysteine-enriched allergen from olive tree pollen. FEBS Lett. 410: 293-296, 1997.

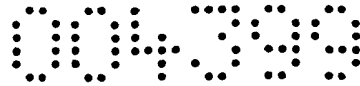
60D Tejera ML, Villalba M, Batanero E, Rodriguez R. Identification, isolation, and characterisation of Ole e 7, a new allergen of olive tree pollen. J Allergy Clin Immunol 104: 797-802, 1999.

60E Ledesma A, Villalba M, Rodriguez R. Cloning, expression and characterisation of a novel four EF-hand Ca(2+)-binding protein from olive pollen with allergenic activity. FEBS Lett 466: 192-196, 2000.

60F Barral P, Batanero E, Palomares O, Quiralte J, Villalba M, Rodriguez R. A major allergen from pollen defines a novel family of plant proteins and shows intra- and interspecies [correction of interspecies] cross-reactivity. J Immunol 172: 3644-3651, 2004.

61 Yi FC, Cheong N, Shek PC, Wang DY, Chua KY, Lee BW. Identification of shared and unique immunoglobulin E epitopes of the highly conserved tropomyosins in *Blomia tropicalis* and *Dermatophagoides pteronyssinus*. Clin Exp Allergy 32: 1203-1210, 2002.

61A Ramos JD, Cheong N, Lee BW, Chua KY. cDNA cloning and expression of Blo t 11, the *Blomia tropicalis* allergen homologous to paramyosin. Int Arch Allergy Immunol 126: 286-293, 2001.



62 Chua, K. Y., G. A. Stewart, and W. R. Thomas. Sequence analysis of cDNA encoding for a major house dust mite allergen, Der p I. *J. Exp. Med.* 167: 175-182, 1988.

62A Chua, K. Y., C. R. Doyle, R. J. Simpson, K. J. Turner, G. A. Stewart, and W. R. Thomas. Isolation of cDNA coding for the major mite allergen Der p II by IgE plaque immunoassay. *Int. Arch. Allergy Appl. Immunol.* 91: 118-123, 1990.

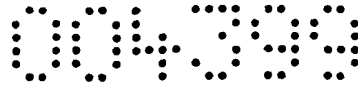
62B Smith AM, Benjamin DC, Derewenda U, Smith WA, Thomas WR, Chapman MD. Sequence polymorphisms and antibody binding to the group 2 dust mite allergens. *Int Arch Allergy Immunol* 124: 61-63, 2001.

62C Smith AM, Benjamin DC, Hozic N, Derewenda U, Smith WA, Thomas WR, Gafvelin G, van Hage-Hamsten M, Chapman MD. The molecular basis of antigenic cross-reactivity between the group 2 mite allergens. *J Allergy Clin Immunol* 107: 977-984, 2001.

63 Smith WA, Thomas WR. Comparative analysis of the genes encoding group 3 allergens from *Dermatophagoides pteronyssinus* and *Dermatophagoides farinae*. *Int Arch Allergy Immunol* 109: 133-140, 1996.

64 Lake, F.R., L.D. Ward, R.J. Simpson, P.J. Thompson, and G.A. Stewart. House dust mite-derived amylase: Allergenicity and physicochemical characterisation. *J. Allergy Clin. Immunol.* 87: 1035-1042, 1991.

65 Tovey, E. R., M. C. Johnson, A. L. Roche, G. S. Cobon, and B. A. Baldo. Cloning and sequencing of a cDNA expressing a recombinant house dust mite protein that binds human IgE and corresponds to an important low molecular weight allergen. *J. Exp. Med.* 170: 1457-1462, 1989.



66 Yasueda, H., T. Shida, T. Ando, S. Sugiyama, und H. Yamakawa. 1991. Allergenic and proteolytic properties of fourth allergens from *Dermatophagoides* mites. In: "Dust Mite Allergens and Asthma. Report of the 2nd international workshop" A. Todt, Hrsg., UCB Institute of Allergy, Brussels, Belgium, S. 63-64.

67 Shen, H.-D., K.-Y. Chua, K.-L. Lin, K.-H. Hsieh, und W.R. Thomas. Molecular cloning of a house dust mite allergen with common antibody binding specificities with multiple components in mite extracts. *Clin. Exp. Allergy* 23: 934-940, 1993.

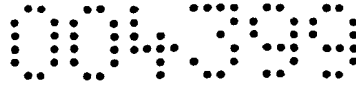
67A O'Neil GM, Donovan GR, Baldo BA. Cloning and characterisation of a major allergen of the house dust mite *Dermatophagoides pteronyssinus*, homologous with glutathione S-transferase. *Biochim Biophys Acta*, 1219: 521-528, 1994.

67B King C, Simpson RJ, Moritz RL, Reed GE, Thompson PJ, Stewart GA. The isolation and characterisation of a novel collagenolytic serine protease allergen (Der p 9) from the dust mite *Dermatophagoides pteronyssinus*. *J Allergy Clin Immunol* 98: 739-747, 1996.

68 Lind P, Hansen OC, Horn N. The binding of mouse hybridoma and human IgE antibodies to the major fecal allergen, Der p I of *D. pteronyssinus*. *J. Immunol.* 140: 4256-4262, 1988.

69 Dilworth, R. J., K. Y. Chua, und W. R. Thomas. Sequence analysis of cDNA coding for a major house dust allergen Der f I. *Clin. Exp. Allergy* 21: 25-32, 1991.

70 Nishiyama, C., T. Yunki, T. Takai, Y. Okumura, und H. Okudaira. Determination of three disulfide bonds in a major house dust mite allergen, Der f II. *Int. Arch. Allergy Immunol.* 101: 159-166, 1993.



70A Trudinger, M., K. Y. Chua, und W. R. Thomas. cDNA encoding the major dust mite allergen Der f II. Clin. Exp. Allergy 21: 33-38, 1991.

71 Shen HD, Chua KY, Lin WL, Hsieh KH, Thomas WR. Molecular cloning and immunological characterisation of the house dust mite allergen Der f 7. Clin Exp Allergy 25: 1000-1006, 1995.

71A Tategaki A, Kawamoto S, Aki T, Jyo T, Suzuki O, Shigeta S, Ono K. Newly described house dust mite allergens. ACI International suppl. 1: 74-76, 2000.

72 Aki T, Kodama T, Fujikawa A, Miura K, Shigeta S, Wada T, Jyo T, Murooka Y, Oka S, Ono K. Immunochemical characterisation of recombinant and native tropomyosins as a new allergen from the house dust mite *Dermatophagoides farinae*. J Allergy Clin Immunol 96: 74-83, 1995.

72A Tsai L, Sun Y, Chao P, Ng H, Hung M, Hsieh K, Liaw S, Chua K. Sequence analysis and expression of a cDNA clone encoding a 98-kDa allergen in *Dermatophagoides farinae*. Clin Exp Allergy 29: 1606-1613, 1999.

72B Gafvelin G, Johansson E, Lundin A, Smith AM, Chapman MD, Benjamin DC, Derewenda U, Van Hage-Hamsten M. Cross-reactivity studies of a new group 2 allergen from the dust mite *Glycyphagus domesticus*, Gly d 2, and group 2 allergens from *Dermatophagoides pteronyssinus*, *Lepidoglyphus destructor*, and *Tyrophagus putrescentiae* with recombinant allergens. J Allergy Clin Immunol 107: 511-518, 2001.

73 van Hage-Hamsten, M., T. Bergman, E. Johansson, B. Persson, H. Jornvall, B. Harfast, und S.G.O. Johansson. N-terminal amino acid sequence of major allergen of the mite *lepidoglyphus destructor* (abst). J. Allergy Clin. Immunol. 91:353, 1993.

74 Varela J, Ventas P, Carreira J, Barbas JA, Gimenez-Gallego G, Polo F. Primary structure of Lep d I, the main Lepidoglyphus destructor allergen. Eur J Biochem 225: 93-98, 1994.

74A Schmidt M, van der Ploeg I, Olsson S, van Hage Hamsten M. The complete cDNA encoding the Lepidoglyphus destructor major allergen Lep d 1. FEBS Lett 370: 11-14, 1995.

75 Eriksson TLJ, Rasool O, Huecas S, Whitley P, Crameri R, Appenzeller U, Gafvelin G, van Hage-Hamsten M. Cloning of three new allergens from the dust mite Lepidoglyphus destructor using phage surface display technology. Eur. J. Biochem. 268: 287-294, 2001.

75A Saarne T, Kaiser L, Rasool O, Huecas S, van Hage-Hamsten M, Gafvelin G: Cloning and characterisation of two IgE-binding proteins, homologous to tropomyosin and  $\alpha$ -tubulin, from the mite Lepidoglyphus destructor. Int Arch Allergy Immunol 130: 258-265, 2003.

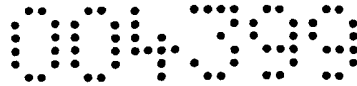
75B Eriksson TL, Johansson E, Whitley P, Schmidt M, Elsayed S, van Hage-Hamsten M. Cloning and characterisation of a group II allergen from the dust mite Tyrophagus putrescentiae. Eur. J. Biochem. 251 (1-2), 443-447, 1998.

76 Rautiainen J, Rytönen M, Pelkonen J, Pentikainen J, Perola O, Virtanen T, Zeiler T, Mantylarvi R. BDA20, a major bovine dander allergen characterised at the sequence level is Bos d 2. Submitted.

77 Gjesing B, Lowenstein H. Immunochemistry of food antigens. Ann Allergy 53:602, 1984.

78 de Groot, H., K.G.H. Goei, P. van Swieten, und R.C. Aalberse.

**NACHGEREICHT**



Affinity purification of a major and a minor allergen from dog extract: Serologic activity of affinity-purified Can f I and Can f I-depleted extract. *J. Allergy Clin. Immunol.* 87:1056-1065, 1991.

79 Konieczny, A. Personal communication; Immunologic Pharmaceutical Corp.

79A Bulone, V. Separation of horse dander allergen proteins by two-dimensional electrophoresis. Molecular characterisation and identification of Equ c 2.0101 and Equ c 2.0102 as lipocalin proteins. *Eur J Biochem* 253: 202-211, 1998.

79B Swiss-Prot acc. P81216, P81217.

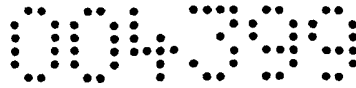
79C Dandeu J. P., Rabillon J., Divanovic A., Carmi-Leroy A., David B. (1993). Hydrophobic interaction chromatography for isolation and purification of Equ c 1, the horse major allergen. *J. Chromatogr.* 621:23-31.

79D Goubran Botros H., Rabillon J., Grégoire C., David B., Dandeu J.P. 1998. Thiophilic absorption chromatography: purification of Equ c 2 and Equ c 3, two horse allergens from horse sweat. *J. Chromatogr. B* 710:57-65.

79E Hilger C, Kohnen M, Grigioni F, Lehnert C, Hentges F. Allergic cross-reactions between cat and pig serum albumin. *Allergy* 52:179-187, 1997; und Hilger C, Grigioni F, Hentges F. Sequence of the gene encoding cat (*Felis domesticus*) serum albumin. *Gene* 169:295-296, 1996.

79F Ichikawa K, Vailes LD, Pomes A, Chapman MD. Molecular cloning, expression and modeling of cat allergen, cystatin (Fel d 3), a cysteine protease inhibitor. *Clin Exp Allergy*, In Press 2001.

**NACHGEREICHT**



80 Fahlbusch B, Rudeschko O, Szilagyi U, Schlott B, Henzgen M, Schlenvoigt G, Schubert H. Purification and partial characterisation of the major allergen, Cav p 1, from guinea pig *Cavia porcellus*. *Allergy* 57: 417-422, 2002.

81 McDonald, B., M. C. Kuo, J. L. Ohman, und L. J. Rosenwasser. 1988. A 29 amino acid peptide derived from rat alpha 2 euglobulin triggers murine allergen specific human T cells (abst). *J. Allergy Clin. Immunol.* 83:251.

81A Clarke, A. J., P. M. Cissold, R. A. Shawi, P. Beattie, und J. Bishop. 1984. Structure of mouse urinary protein genes: differential splicing configurations in the 3'-non-coding region. *EMBO J* 3:1045-1052.

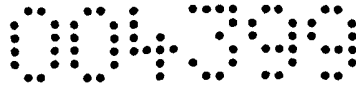
82 Longbottom, J. L. 1983. Characterisation of allergens from the urines of experimental animals. *McMillan Press, London, S.* 525-529.

83 Laperche, Y., K. R. Lynch, K. P. Dolans, und P. Feigelsen. 1983. Tissue-specific control of alpha 2u globulin gene expression: constitutive synthesis in submaxillary gland. *Cell* 32:453-460.

83A Bush RK, Sanchez H, Geisler D. 1999. Molecular cloning of a major *Alternaria alternata* allergen, rAlt a 2. *J Allergy Clin Immunol* 104:665-671.

83B Aukrust L, Borch SM. 1979. Partial purification and characterisation of two *Cladosporium herbarum* allergens. *Int Arch Allergy Appl Immunol* 60:68-79.

83C Sward-Nordmo M, Paulsen BS, Wold JK. 1988. The glycoprotein allergen Ag-54 (Cla h II) from *Cladosporium herbarum*. *Structural*



studies of the carbohydrate moiety. *Int Arch Allergy Appl Immunol* 85:288-294.

84 Shen, et al. *J. Allergy Clin. Immunol.* 103:S157, 1999.

84A Cramer R. Epidemiology and molecular basis of the involvement of *Aspergillus fumigatus* in allergic diseases. *Contrib. Microbiol.* Vol. 2, Karger, Basel (in Druck).

84B Shen, et al. (Manuskript vorgelegt), 1999

84C Shen HD, Ling WL, Tan MF, Wang SR, Chou H, Han SIH. Vacuolar serine proteinase: A major allergen of *Aspergillus fumigatus*. 10th International Congress of Immunology, Abstract, 1998.

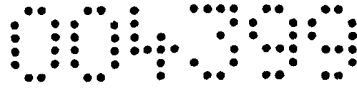
85 Kumar A, Reddy LV, Sochanik A, Kurup VP. 1993. Isolation and characterisation of a recombinant heat shock protein of *Aspergillus fumigatus*. *J. Allergy Clin. Immunol.* 91:1024-1030.

85A Saxena S, Madan T, Muralidhar K, Sarma PU. 2003. cDNA cloning, expression and characterisation of an allergenic L3 ribosomal protein of *Aspergillus fumigatus*. *Clin Exp Immunol* 134:86-91.

85B Baur X, Melching-Kollmuss S, Koops F, Strassburger K, Zober A. IgE-mediated allergy to phytase -- a new animal feed additive. *Allergy* 57: 943-945, 2002.

86A Shen HD, Lin WL, Tsai JJ, Liaw SF, Han SH. 1996. Allergenic components in three different species of *Penicillium*: crossreactivity among major allergens. *Clin Exp Allergy* 26:444-451.

86B Shen, et al. Abstract; The XVIII Congress of the European Academy of Allergology and Clinical Immunology, Brussels, Belgium, 3-7 July 1999.



87 Shen HD, Lin WL, Tam MF, Wang SR, Tzean SS, Huang MH, Han SH. Characterisation of allergens from *Penicillium oxalicum* and *P. notatum* by immunoblotting and N-terminal amino acid sequence analysis. *Clin Exp Allergy* 29: 642-651, 1999.

87A Shen HD, Liaw SF, Lin WL, Ro LH, Yang HL, Han SH. Molecular cloning of cDNA coding for the 68 kDa allergen of *Penicillium notatum* using MoAbs. *Clin Exp Allergy* 25: 350-356, 1995.

87B Shen HD, Wang CW, Lin WL, Lai HY, Tam MF, Chou H, Wang SR, Han SH. cDNA cloning and immunologic characterisation of Pen o 18, the vacuolar serine protease major allergen of *Penicillium oxalicum*. *J Lab Clin Med* 137: 115-124, 2001.

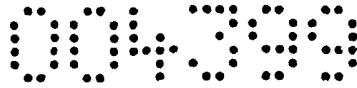
88 Woodfolk JA, Wheatley LM, Piyasena RV, Benjamin DC, Platts-Mills TA. 1998. Trichophyton antigens associated with IgE antibodies and delayed type hypersensitivity. Sequence homology to two families of serine proteinases. *J Biol Chem* 273:29489-96.

88A Deuell, B., L.K. Arruda, M.L. Hayden, M.D. Chapman und T.A.E. Platts-Mills. 1991. Trichophyton tonsurans Allergen I. *J. Immunol.* 147:96-101.

89 Shen, H.D., K.B. Choo, H.H. Lee, J.C. Hsieh, und S.H. Han. 1991. The 40 kd allergen of *Candida albicans* is an alcohol dehydrogenase: molecular cloning and immunological analysis using monoclonal antibodies. *Clin. Exp. Allergy* 21:675-681.

89A Horner WE, Reese G, Lehrer SB. 1995. Identification of the allergen Psi c 2 from the basidiomycete *Psilocybe cubensis* as a fungal cyclophilin. *Int Arch Allergy Immunol* 107:298-300.

89B Chang CY, Chou H, Tam MF, Tang RB, Lai HY, Shen HD. Characterisation of Enolase Allergen from *Rhodotorula mucilaginosa*. *J*



Biomed Sci 9: 645-655, 2002.

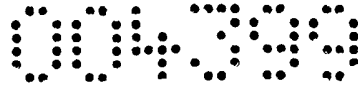
90 Yasueda H, Hashida-Okado T, Saito A, Uchida K, Kuroda M, Onishi Y, Takahashi K, Yamaguchi H, Takesako K, Akiyama K. Identification and cloning of two novel allergens from the lipophilic yeast, *Malassezia furfur*. *Biochem Biophys Res Commun* 248: 240-244, 1998. NB: strain TIMM2782 (Teikyo University Institute for Medical Mycology) equal to strain CBS1878 (Central Bureau von Schimmelkulturen).

90A Onishi Y, Kuroda M, Yasueda H, Saito A, Sono-Koyama E, Tuna-sawa S, Hashida-Okado T, Yagihara T, Uchida K, Yamaguchi H, Akiyama K, Kato I, Takesako K. Two-dimensional electrophoresis of *Malassezia* allergens for atopic dermatitis and isolation of Mal f 4 homologs with mitochondrial malate dehydrogenase. *Eur J Biochem* 261: 148-154, 1999. NB: strain TIMM2782 (Teikyo University Institute for Medical Mycology) equal to strain CBS1878 (Central Bureau von Schimmelkulturen).

91 Schmidt M, Zargari A, Holt P, Lindbom L, Hellman U, Whitley P, van der Ploeg I, Harfast B, Scheynius A. The complete cDNA sequence and expression of the first major allergenic protein of *Malassezia furfur*, Mal f 1. *Eur J Biochem* 246:181-185, 1997. NB: strain ATCC no. 42132 (American Type Culture Collection).

91A Rasool O, Zargari A, Almqvist J, Eshaghi H, Whitley P, Scheynius A. Cloning, characterisation and expression of complete coding sequences of three IgE binding *Malassezia furfur* allergens, Mal f 7, Mal f 8 and Mal f 9. *Eur J Biochem* 267: 4355-4361, 2000. NB: strain ATCC no. 42132 (American Type Culture Collection).

91B NB: ; strain 4625 (Indian Agricultural Research Institute, PUSA; New Delhi , India ).



92 Kuchler, K., M. Gmachl, M. J. Sippl, und G. Kreil. 1989. Analysis of the cDNA for phospholipase A2 from honey bee venom glands: The deduced amino acid sequence reveals homology to the corresponding vertebrate enzymes. Eur. J. Biochem. 184:249-254.

93 Gmachl, M., und G. Kreil. 1993. Bee venom hyaluronidase is homologous to a membrane protein of mammalian sperm. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90:3569-3573.

93A Hoffman DR. 1977. Allergens in bee venom III. Identification of allergen B as an acid phosphatase. J Allergy Clin. Immunol. 59:364-366.

94 Habermann, E. 1972. Bee and wasp venoms. Science 177:314-322.

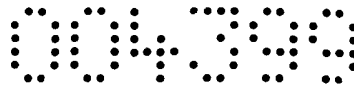
95 Hoffman DR, Jacobson RS. 1996. Allergens in Hymenoptera venom XXVII: Bumblebee venom allergy and allergens. J. Allergy Clin. Immunol. 97:812-821.

95A Hoffman DR, El-Choufani AE, Smith MM, de Groot H. 2001. Occupational allergy to bumblebee venom: Allergens of *Bombus terrestris*. J Allergy Clin Immunol In press.

95B Helm R, Cockrell G, Stanley JS, Brenner RJ, Burks W, Bannon GA. 1996. Isolation and characterisation of a clone encoding a major allergen (Bla g Bd90K) involved in IgE mediated cockroach hypersensitivity. J Allerg Clin Immunol 98:172-180.

95C Pomes A, Melen E, Vailes LD, Retief JD, Arruda LK, Chapman MD. 1998. Novel allergen structures with tandem amino acid repeats derived from German and American cockroach. J Biol Chem 273:30801-30807.

96 Arruda LK, Vailes LD, Mann BJ, Shannon J, Fox JW, Vedvick TS,



Hayden ML, Chapman MD. Molecular cloning of a major cockroach (*Blattella germanica*) allergen, Bla g 2. Sequence homology to the aspartic proteases. *J Biol Chem* 270:19563-19568, 1995.

97 Arruda LK, Vailes LD, Hayden ML, Benjamin DC, Chapman MD. Cloning of cockroach allergen, Bla g 4, identifies ligand binding proteins (or calycins) as a cause of IgE antibody responses. *J Biol Chem* 270:31196-31201, 1995.

98 Arruda LK, Vailes LD, Benjamin DC, Chapman MD. Molecular cloning of German Cockroach (*Blattella germanica*) allergens. *Int Arch Allergy Immunol* 107:295-297, 1995.

98A Wu CH, Wang NM, Lee MF, Kao CY, Luo SF. 1998. Cloning of the American cockroach Cr-PII allergens: Evidence for the existence of cross-reactive allergens between species. *J Allergy Clin Immunol* 101:832-840.

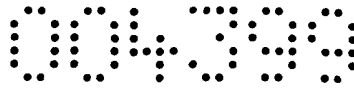
98B Melen E, Pomés A, Vailes LD, Arruda LK, Chapman MD. 1999. Molecular cloning of Per a 1 and definition of the cross-reactive Group 1 cockroach allergens. *J Allergy Clin Immunol* 103:859-64.

98C Wu CH, Lee MF, Liao SC, Luo SF. Sequencing analysis of cDNA clones encoding the American cockroach Cr-PI allergens. *J Biol Chem* 271:17937-17943, 1996.

98D Wu CH, Lee MF, Wang NM, Luo SF. Sequencing and immunochemical characterisation of the American cockroach Per a 3 (Cr-PI) isoallergenic variants. *Molecular Immunol* 34:1-8, 1997.

98E Santos ABR, Chapman MD, Aalberse RC, Vailes LD, Ferriani VPL, Oliver C, Riszo MC, Naspitz CK, Arruda LK. 1999. Cockroach allergens and asthma in Brazil: Identification of tropomyosin as a major allergen with potential cross-reactivity with mite and

**NACHGEREICHT**



shrimp allergens. *J Allergy Clin Immunol* 104:329-337.

98F Asturias JA, Gómez-Bayón N, Arilla MC, Martínez A, Palacios R, Sánchez-Gascón, Martínez J. 1999. Molecular characterisation of American cockroach tropomyosin (*Periplaneta americana* allergen 7), a cross-reactive allergen. *J Immunol* 162:4342-4348.

99 Mazur, G., X. Baur, und V. Liebers. 1990. Hypersensitivity to hemoglobins of the Diptera family Chironomidae: Structural and functional studies of their immunogenic/allergenic sites. *Monog. Allergy* 28:121-137.

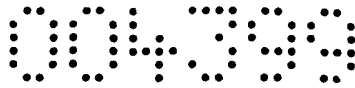
99A Moneo I, Vega JM, Caballero ML, Vega J, Alday E. Isolation and characterisation of Tha p 1, a major allergen from the pine processionary caterpillar *Thaumetopoea pityocampa*. *Allergy* 58:34-37, 2003.

100 Soldatova, L., L. Kochoumian, und T.P. King. 1993. Sequence similarity of a hornet (*D. maculata*) venom allergen phospholipase A1 with mammalian lipases. *FEBS Letters* 320:145-149.

101 Lu, G., L. Kochoumian und T.P. King. Whiteface hornet venom allergen hyaluronidase: cloning and its sequence similarity with other proteins (abst.). 1994. *J. Allergy Clin. Immunol.* 93:224.

102 Fang, K. S. F., M. Vitale, P. Fehlner, und T. P. King. 1988. cDNA cloning and primary structure of a white-faced hornet venom allergen, antigen 5. *Proc. Natl. Acad. Sci., USA* 85:895-899.

103 King, T. P., D. C. Moran, D. F. Wang, L. Kochoumian, und B.T. Chait. 1990. Structural studies of a hornet venom allergen antigen 5, Dol m V and its sequence similarity with other proteins. *Prot. Seq. Data Anal.* 3:263-266.



104 Lu, G., M. Villalba, M.R. Coscia, D.R. Hoffman, und T.P. King. 1993. Sequence analysis and antigen cross reactivity of a venom allergen antigen 5 from hornets, wasps and yellowjackets. J. Immunol. 150: 2823-2830.

105 King, T. P. und Lu, G. 1997. Unveröffentlichte Daten.

105A King TP, Lu G, Gonzalez M, Qian N und Soldatova L. 1996. Yellow jacket venom allergens, hyaluronidase and phospholipase: sequence similarity and antigenic cross-reactivity with their hornet and wasp homologs and possible implications for clinical allergy. J. Allergy Clin. Immunol. 98:588-600.

106 Hoffman, D.R. 1993. Allergens in hymenoptera venom XXV: The amino acid sequences of antigen 5 molecules and the structural basis of antigenic cross-reactivity. J. Allergy Clin. Immunol. 92:707-716.

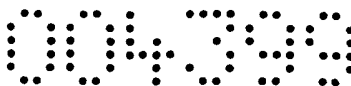
107 Hoffman DR. 1992. Unveröffentlichte Daten.

108 Hoffman DR. The complete amino acid sequence of a yellowjacket venom phospholipase (abst). J. Allergy Clin. Immunol. 91:187, 1993.

109 Jacobson RS, Hoffman DR, Kemeny DM. The cross-reactivity between bee and vespid hyaluronidases has a structural basis (abst). J. Allergy Clin. Immunol. 89:292, 1992.

110 Hoffman DR. Allergens in Hymenoptera venom XXIV: The amino acid sequences of imported fire ant venom allergens Sol i II, Sol i III, and Sol i IV. J. Allergy Clin. Immunol 91: 71-78, 1993.

111 Schmidt M, Walker RB, Hoffman DR, McConnell TJ. Nucleotide



sequence of cDNA encoding the fire ant venom protein Sol i II. FEBS Letters 319: 138-140, 1993.

111A Paddock CD, McKerrow JH, Hansell E, Foreman KW, Hsieh I, Marshall N. Identification, cloning, and recombinant expression of procalin, a major triatomine allergen. J Immunol 167: 2694-2699, 2001.

112 Elsayed S, Bennich H. The primary structure of Allergen M from cod. Scand J Immunol 3: 683-686, 1974.

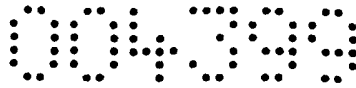
113 Elsayed S, Aas K, Sletten K, Johansson SGO. Tryptic cleavage of a homogeneous cod fish allergen and isolation of two active polypeptide fragments. Immunochemistry 9: 647-661, 1972.

114 Hoffman, D. R. 1983. Immunochemical identification of the allergens in egg white. J. Allergy Clin. Immunol. 71: 481-486.

115 Langeland, T. 1983. A clinical and immunological study of allergy to hen's egg white. IV. specific IgE antibodies to individual allergens in hen's egg white related to clinical and immunological parameters in egg-allergic patients. Allergy 38:493-500.

116 Daul CB, Slattery M, Morgan JE, Lehrer SB. 1993. Common crustacea allergens: identification of B cell epitopes with the shrimp specific monoclonal antibodies. In: "Molecular Biology and Immunology of Allergens" (D. Kraft und A. Sehon, Hrsg.). CRC Press, Boca Raton. S. 291-293.

116A Shanti KN, Martin BM, Nagpal S, Metcalfe DD, Subba Rao PV. Identification of tropomyosin as the major shrimp allergen and characterisation of its IgE-binding epitopes. J. Immunol. 151: 5354-5363, 1993.



117 Yu CJ, Lin YF, Chiang BL, Chow LP. Proteomics and Immunological Analysis of a Novel Shrimp Allergen, Pen m 2. J Immunol 170: 445-453, 2003.

117A Miyazawa M, Fukamachi H, Inagaki Y, Reese G, Daul CB, Lehrer SB, Inouye S, Sakaguchi M. Identification of the first major allergen of a squid (*Todarodes pacificus*). J. Allergy Clin. Immunol. 98: 948-953, 1996.

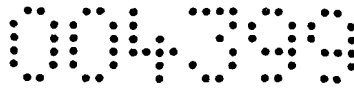
117B Asturias JA, Eraso E, Arilla MC, Gomez-Bayon N, Inacio F, Martinez A. Cloning, isolation, and IgE-binding properties of *Helix aspersa* (brown garden snail) tropomyosin. Int Arch Allergy Immunol 128: 90-96, 2002.

117C Lopata AL, Zinn C, Potter PC. Characteristics of hypersensitivity reactions and identification of a unique 49 kd IgE-binding protein (Hal-m-1) in abalone (*Haliotis midae*). J. Allergy Clin. Immunol. 100: 642-648, 1997.

117D Hoffmann-Sommergruber K, O'Riordain G, Ahorn H, Ebner C, Laimer Da Camara Machado M, Pühringer H, Scheiner O, Breiteneder H. Molecular characterisation of Dau c 1, the Bet v 1 homologous protein from carrot and its cross-reactivity with Bet v 1 and Api g 1. Clin. Exp. Allergy 29: 840-847, 1999.

118 Monsalve RI, Gonzalez de la Pena MA, Menendez-Arias L, Lopez-Otin C, Villalba M, Rodriguez R. Characterisation of a new mustard allergen, Bra j 1E. Detection of an allergenic epitope. Biochem. J. 293: 625-632 1993.

118A. Monsalve RI, Gonzalez de la Pena MA, Lopez-Otin C, Fiandor A, Fernandez C, Villalba M, Rodriguez R. 1997. Detection, isolation and complete amino acid sequence of an aeroallergenic protein from rapeseed flour. Clin Exp Allergy 27:833-841.



119 Mena, M., R. Sanchez-Monge, L. Gomez, G. Salcedo, und P. Carbonero. A major barley allergen associated with baker's asthma disease is a glycosylated monomeric inhibitor of insect alpha-amylase: cDNA cloning and chromosomal location of the gene. *Plant Molec. Biol.* 20: 451-458, 1992.

119A Palosuo K, Varjonen E, Kekki OM, Klemola T, Kalkkinen N, Alenius H, Reunala T. Wheat omega-5 gliadin is a major allergen in children with immediate allergy to ingested wheat. *J. Allergy Clin. Immunol.* 108: 634-638, 2001.

119B Xu H, Theerakulpisut P, Goulding N, Suphioglu C, Singh M. B. Bhalla P. L. Cloning expression and immunological characterisation of Ory s 1, the major allergen of rice pollen. *Gene* 164: 255-259, 1995.

119C Pastorello EA, Ortolani C, Farioli L, Pravettoni V, Ispano M, Borga A, Bengtsson A, Incorvaia C, Berti C, Zanussi C. Allergenic cross-reactivity among peach, apricot, plum, and cherry in patients with oral allergy syndrome: an in vivo and in vitro study. *J. Allergy Clin. Immunol.* 94: 699-707, 1994.

119D Diaz-Perales A, Tabar AI, Sanchez-Monge R, Garcia BE, Gomez B, Barber D, Salcedo G. Characterisation of asparagus allergens: a relevant role of lipidtransfer proteins. *J Allergy Clin Immunol* 110: 790-796, 2002.

119E Galleguillos F, Rodriguez JC. Asthma caused by bromelin inhalation. *Clin Allergy* 8: 21-24, 1978.

119F Baur X. Studies on the specificity of human IgE-antibodies to the plant proteases papain and bromelain. *Clin Allergy* 9: 451-457, 1979.

119G Gailhofer G, Wilders-Truschnig M, Smolle J, Ludvan M. Asth-

ma caused by bromelain: an occupational allergy. Clin Allergy 18: 445-450, 1988.

120 Menendez-Arias, L., I. Moneo, J. Dominguez, und R. Rodriguez. 1988. Primary structure of the major allergen of yellow mustard (*Sinapis alba* L.) seed, Sin a I. Eur. J. Biochem. 177:159-166.

120A Gonzalez R, Varela J, Carreira J, Polo F. Soybean hydrophobic protein and soybean hull allergy. Lancet 346:48-49, 1995.

120B Kleine-Tebbe J, Vogel L, Crowell DN, Haustein UF, Vieths S. Severe oral allergy syndrome and anaphylactic reactions caused by a Bet v 1- related PR-10 protein in soybean, SAM22. J Allergy Clin Immunol 110: 797-804, 2002.

120C Sanchez-Monge R, Pascual CY, Diaz-Perales A, Fernandez-Crespo J, Martin-Esteban M, Salcedo G. Isolation and characterisation of relevant allergens from boiled lentils. J. Allergy Clin. Immunol. 106: 955-961, 2000.

121 Gavrovic-Jankulovic M, Cirkovic T, Vuckovic O, Atanaskovic-Markovic M, Petersen A, Gojgic G, Burazer L, Jankov RM. Isolation and biochemical characterisation of a thaumatin-like kiwi allergen. J Allergy Clin Immunol 110: 805-810, 2002.

121A Pastorello EA, Varin E, Farioli L, Pravettoni V, Ortolani C, Trambaioli C, Fortunato D, Giuffrida MG, Rivolta F, Robino A, Calamari AM, Lacava L, Conti A. The major allergen of sesame seeds (*Sesamum indicum*) is a 2S albumin. J. Chromatogr. B Biomed. Sci. Appl. 756: 85-93, 2001.

121B Moneo I, Caballero ML, Gomez F, Ortega E, Alonso MJ. Isolation and characterisation of a major allergen from the fish parasite *Anisakis simplex*. J. Allergy Clin. Immunol. 106: 177-

182, 2000.

121C Asturias JA, Eraso E, Martínez A. 2000. Is tropomyosin an allergen in *Anisakis*? *Allergy* 55:898-890.

122 Christie, J. F., B. Dunbar, I. Davidson, und M. W. Kennedy. 1990. N-terminal amino acid sequence identity between a major allergen of *Ascaris lumbricoides* and *Ascaris suum* and MHC-restricted IgE responses to it. *Immunology* 69:596-602.

122A Baur X, König G, Bencze K, Fruhmann G. Clinical symptoms and results of skin test, RAST and bronchial provocation test in thirty-three papain workers: evidence for strong immunogenic potency and clinically relevant 'proteolytic effects of airborne papain'. *Clin Allergy* 12: 9-17, 1982.

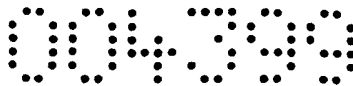
122B Onisuka R, Kamiya H, Muramoto K, Goto R, Inoue K, Kumamoto K, Nakajima Y, Iida S, Ishigami F. Purification of the major allergen of red soft coral (*Dendronephthya nipponica*). *Int Arch Allergy Immunol* 125: 135-143, 2001.

123 Czuppon AB, Chen Z, Rennert S, Engelke T, Meyer HE, Heber M, Baur X. The rubber elongation factor of rubber trees (*Hevea brasiliensis*) is the major allergen in latex. *J Allergy Clin Immunol* 92:690-697, 1993.

124 Attanayaka DPSTG, Kekwick RGO, Franklin FCH. 1991. Molecular cloning and nucleotide sequencing of the rubber elongation factor gene from *hevea brasiliensis*. *Plant Mol Biol* 16:1079-1081.

125 Chye ML, Cheung KY. 1995. J 1,3-glucanase is highly expressed in Laticifers of *Hevea brasiliensis*. *Plant Mol Biol* 26:397-402.

126 Alenius H, Palosuo T, Kelly K, Kurup V, Reunala T, Mäkinen-



Kiljunen S, Turjanmaa K Fink J. 1993. IgE reactivity to 14-kD and 27-kD natural rubber proteins in Latex-allergic children with Spina bifida and other congenital anomalies. *Int Arch Allergy Immunol* 102:61-66.

127 Yeang HY, Cheong KF, Sunderasan E, Hamzah S, Chew NP, Hamid S, Hamilton RG, Cardoso MJ. 1996. The 14.6 kD (REF, Hev b 1) and 24 kD (Hev b 3) rubber particle proteins are recognised by IgE from Spina Bifida patients with Latex allergy. *J Allerg Clin Immunol* in press.

128 Sunderasan E, Hamzah S, Hamid S, Ward MA, Yeang HY, Cardoso MJ. 1995. Latex B-serum J-1,3-glucanase (Hev b 2) and a component of the microhelix (Hev b 4) are major Latex allergens. *J nat Rubb Res* 10:82-99.

Die Kenntnis der Nukleinsäure-Sequenzen, die für diese Allergene codieren, ermöglicht ihre rekombinante Herstellung. Daher werden besonders diese Allergene bevorzugt bei Immuntherapien und bei Verfahren gemäß der vorliegenden Erfindung verwendet.

Ein weiterer Aspekt der vorliegenden Erfindung betrifft ein Set zur Evaluierung der Allergen-Empfindlichkeit eines Individuums und/oder der klinischen Wirksamkeit einer Allergen-Immuntherapie für mindestens eine Allergie, umfassend

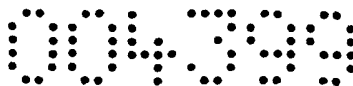
- mindestens ein Allergen zum Induzieren einer Mediator-Freisetzung von Zellen, die den Mediator als Antwort auf ein Allergen freisetzen können,

- Mittel zur Detektion des Mediators, und

- gegebenenfalls mindestens einen Mediator-Standard.

Das hierin vorgesehene Set umfasst mindestens ein Allergen, welches zur Induktion der Freisetzung eines Mediators aus in einer Probe enthaltenen Mediator-freisetzenden Zellen verwendet werden kann. Der freigesetzte Mediator wird dann direkt oder vorzugsweise - nach dem Entfernen fester Teile der Probe - im Überstand der Reaktionsmischung nachgewiesen. Gegebenenfalls sind auch Mittel zur Detektion von IgE-Molekülen, die das Allergen binden, im Set gemäß der vorliegenden Erfindung eingeschlossen. IgE ist fähig, ein bestimmtes Allergen zu binden und,

**NACHGEREICHT**



wenn es an eine Mediator-freisetzende Zelle und das Allergen gebunden ist, die Freisetzung von Mediator aus diesen Zellen zu vermitteln. IgE, das für ein Allergen spezifisch ist, wird jedoch normalerweise nicht im Blut nachgewiesen und wird nur erzeugt, wenn eine Person gegen ein Allergen sensibilisiert wird. Um die Menge des Mediators in der Probe (für die Herstellung einer Standard-Kurve) genau zu bestimmen, kann ein Mediator-Standard gegebenenfalls Teil des Sets sein.

Vorzugsweise sind die Zellen Mastzellen und/oder basophile und/oder eosinophile Zellen.

Gemäß einer weiteren bevorzugten Ausführungsform der vorliegenden Erfindung ist das Allergen ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus Profilinen, insbesondere Phl p 12, Birken-Allergenen, insbesondere Bet v 4, Staubmilben-Allergenen, insbesondere Der p2, Vorratsmilben-Allergenen, insbesondere Lep d 2, Wiesenlieschgras-Allergenen, insbesondere Phl p 7, und den in Tabelle 1 aufgezählten Allergenen.

Die Mittel zur Detektion von Mediatoren sind vorzugsweise Antikörper.

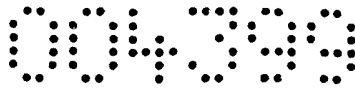
Ein wie oben erwähnter Mediator wird vorzugsweise durch immunologische Verfahren nachgewiesen. Daher kann das Set mindestens einen Antikörper vorsehen, der spezifisch einen Mediator binden kann. Vorzugsweise werden Enzyme-linked Immuno-Sorbens-Assays (ELISA), Radioimmunoassays (RIA) oder „Lateral Flow Devices“ verwendet.

Die vorliegende Erfindung wird weiters durch die folgenden Figuren und Beispiele veranschaulicht, ohne darauf eingeschränkt zu sein.

Fig. 1 zeigt den Zusammenhang zwischen den Ergebnissen einer intradermalen Endpunkt-Titration (x-Achse: Allergen-Konzentration, die die erste positive Reaktion ergibt) und rBet v 1-spezifischem Serum-IgE (y-Achse: kE/l CAP System).

Fig. 2 zeigt den Zusammenhang zwischen den Ergebnissen einer basophilen Histamin-Freisetzung (x-Achse: Allergen-Konzentration, die 30% Histamin-Freisetzung ergibt) und rBet v 1-spezifischem Serum-IgE (y-Achse: kE/l CAP System).

Fig. 3 zeigt den Zusammenhang zwischen den Ergebnissen einer intradermalen Endpunkt-Titration (x-Achse: Allergen-Konzentration, die die erste positive Reaktion ergibt) und den Ergebnissen einer basophilen Histamin-Freisetzung (y-Achse: Allergen-Kon-



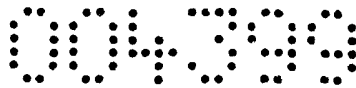
zentration, die 30% Histamin-Freisetzung ergibt).

Fig. 4 zeigt den Zusammenhang zwischen Bet v 1-spezifischem IgE, mittels CAP bestimmt (x-Achse: kE/l) und rBet v 1-spezifischem IgE, mittels einer markierten alpha-Kette bestimmt (y-Achse: Zählungen pro Minute (counts per minute, c.p.m.); 1:5 Serum-Verdünnung).

### **BEISPIELE**

#### **Beispiel 1:**

Die Vernetzung von an Effektor-Zellen (Mastzellen und Basophilen) gebundenen IgE-Antikörpern durch Allergene ist ein wesentlicher Vorgang für die Induktion der unmittelbaren Symptome der Typ I-Allergie (Kawakami T., et al., Nat. Rev. Immunol. (2002) 2:773-86). Wie in den klassischen Versuchen von Prausnitz und Küstner beschrieben (Prausnitz C., et al., Centralbe F Bact 1 Abt Orig (1921) 86:160-8), hängt dieser Vorgang von drei Haupt-Faktoren ab, d.h. Allergen-spezifischen IgE-Antikörpern, Effektor-Zellen und Allergenen. Weil die Charakterisierung der IgE-Antikörper die Entwicklung diagnostischer Tests für die Messung genauer Mengen der Allergen-spezifischen IgE-Antikörper ermöglicht, wurde in mehreren Untersuchungen der Zusammenhang der Allergen-spezifischen Serum-IgE-Mengen und der biologischen Empfindlichkeit auf Allergene bei allergischen Patienten erforscht (Stenius B., et al., Clin. Allergy (1971) 1:37-55; Bryant D.H., et al., Clin. Allergy (1975) 5:145-57; Pauli G., et al., Clin. Allergy (1977) 7:337-46; Bousquet J., et al., Clin. Allergy (1987) 17:529-36; Witteman A.M., et al., J. Allergy Clin. Immunol. (1996) 97:16-25; Niederberger V., et al. J. Invest. Dermatol. (2001) 117:848-51; Norman P.S., et al., J. Allergy Clin. Immunol. (1973) 52:210-24; Lichtenstein L.M., et al. J. Allergy Clin. Immunol. (1971) 47:103 (A37)). Es ist wohlbekannt, dass das Vorhandensein von Allergen-spezifischem Serum-IgE eine Vorbedingung für das Auftreten einer Reaktion vom unmittelbaren Typ ist, doch ob die Menge des Allergen-spezifischen IgE mit der Empfindlichkeit vom unmittelbaren Typ gegen das bestimmte Allergen korreliert, war sehr umstritten. Um das Problem anzusprechen, wurden bei fast allen in der Vergangenheit durchgeführten Untersuchungen Allergen-Extrakte, d.h. Mischungen von Allergenen und nicht-allergenen Molekülen, verwendet. (Stenius B, et al., Clin Allergy (1971) 1:37-55; Bousquet J, et al., Clin Allergy (1987) 17:529-



36; Norman PS, et al., J Allergy Clin Immunol (1973) 52:210-24; Lichtenstein LM, et al. J Allergy Clin Immunol (1971) 47:103 (A37)). Dies ist der Grund dafür, dass diese Untersuchungen den Zusammenhang zwischen Allergen-spezifischen IgE-Mengen und biologischen Aktivitäten auf molekularer Ebene nicht analysieren konnten. Jüngste Untersuchungen unter Verwendung gereinigter natürlicher und rekombinanter Allergene zur erneuten Erforschung der Beziehung zwischen Hautempfindlichkeit und Allergen-spezifischen IgE-Mengen berichten erhebliche Diskrepanzen zwischen diesen Parametern (Witteman A.M. et al., J. Allergy Clin. Immunol. (1996) 97:16-25; Niederberger V. et al., J. Invest. Dermatol. (2001) 117:848-51). In diesem Beispiel wurde gereinigtes rekombinantes Bet v 1, das Haupt-Birkenpollen-Allergen, als paradigmatisches Hilfsmittel zur weiteren Erforschung des Zusammenhanges zwischen Allergen-spezifischen IgE-Mengen, Effektor-Zell-Antworten und in vivo-Empfindlichkeit verwendet. In einer Population von 18 gegen Birkenpollen allergischen Patienten, die aufgrund wohldefinierter klinischer Kriterien ausgewählt wurden, und außerhalb der Pollen-Saison wurden die Hautempfindlichkeit und die basophile Degranulation als Antwort auf festgelegte Mengen von strukturell gefaltetem rekombinatem Bet v 1 quantifiziert. Die Ergebnisse der biologischen und der serologischen Tests wurden verglichen. Für die Messung der Bet v 1-spezifischen IgE-Antikörper-Mengen wurden zwei verschiedene Tests benützt: einer zur Detektion jeglichen Bet v 1-spezifischen IgEs, und der andere zur Detektion von Bet v 1-spezifischem IgE, das an Effektor-Zellen binden kann.

#### Material und Methoden

##### *Population der Studie*

Die Untersuchung der Patienten wurde zwischen Jänner und April, vor Beginn der Birkenpollen-Saison, durchgeführt. Achtzehn Patienten, acht Frauen und 10 Männer im Alter zwischen 28 und 58 Jahren (mittleres Alter: 45,6 Jahre) wurden in der Studie auf Basis der klinischen Vorgeschichte einer Birken-Pollinose und positiver Haut-Prick-Tests auf Birkenpollen-Extrakt inkludiert. Bei allen Patienten war mindestens 3 Jahre zuvor eine moderate bis schwere Rhinokonjunktivitis erstmals diagnostiziert worden. Fünf Patienten hatten leichtes Asthma während der Birkenpollen-Saison und 12 Patienten hatten ein orales Allergie-Syndrom bei Früchten der Rosaceae-Familie (Apfel,

004399

- 65 -

Pfirsich, Aprikose und Mandeln) und Gemüsen aus der Solanaceae- (Kartoffel, Tomate) und Apiaceae-Familie (Sellerie, Karotte). Skin-Prick-Tests mit einer Standard-Gruppe von Atemwegs-Allergenen (Stallergènes, Frankreich), bestehend aus Hausstaubmilben, Mischungen von Pilz-Allergenen, Hunde- und Katzen-Hautschuppen, Schaben, Gras, Bäumen (einschließlich Birke, Olive und Esche) und Unkraut-Pollen wurden durchgeführt, um das Sensibilisierungs-Profil zu identifizieren. Die Patienten-Charakteristika sind in Tabelle 2 gezeigt.

**NACHGEREICHT**

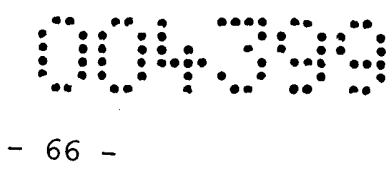
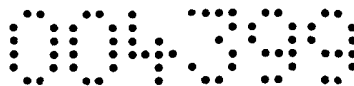


Tabelle 2. Klinische Daten, Ergebnisse der Serologie, basophilen Histamin-Freisetzung und Haut-Tests für die Population der Studie

N	Initialen	Alter	Symptom	Positiver Prick-Test	Nahrungsmittel-Allergie	+ ID test	30% HF	IgE Klasse	Spezif. IgE (kE/l) (S)	Ges. IgE (kE/l) (T)	(S/T)%	IgE (c.p.m.)					
												1:5	1:10	IgG1	IgG2	IgG3	IgG4
1	F-T	58	R-K	m, b, o, g	a, ki, p, ma, n	10 <sup>-3</sup>	0,3 x 10 <sup>-2</sup>	3	12,1	30,6	39,5	237	167	0,24	0,15	0,181	0,131
2	S-F	33	R-K	b		0,3 x 10 <sup>-1</sup>	0,3 x 10 <sup>-2</sup>	4	24,1	142	16,9	400	259	0,798	0,111	0,082	0,408
3	W-F	53	R-K	b, o	a, p, n	10 <sup>-1</sup>	10 <sup>-1</sup>	3	5,22	11,5	45,4	95	61	0,537	0,079	0,788	0,082
4	F-JJ	51	R-K	b		10 <sup>-3</sup>	0,3 x 10 <sup>-3</sup>	5	59,9	128	46,8	1800	856	1,066	0,106	0,072	0,198
5	G-S	49	R-K	m, b	a, p, ap	0,3 x 10	10 <sup>-4</sup>	3	17,1	33	51,8	177	112	0,187	0,074	0,065	0,075
6	S-S	50	R-K	b, o, u, k		1	0,3 x 10 <sup>-2</sup>	4	41,1	168	24,5	630	318	0,287	0,081	0,081	0,103
7	B-A	39	R-K, A	b, e		0,3 x 10	0,3 x 10 <sup>-1</sup>	4	20	43	46,5	233	152	0,298	0,083	0,081	0,071
8	O-C	37	R-K	b, o, e, u	a, ki, p	10	10 <sup>-1</sup>	5	79,9	231	34,6	1737	565	0,658	0,09	0,83	0,209
9	L-N	44	R-K, A	b, e	a, n	10 <sup>-5</sup>	10 <sup>-2</sup>	4	26,6	115	23,1	351	195	1,325	0,098	0,074	0,136
10	M-C	43	R-K, A	b, o		10 <sup>-3</sup>	0,3 x 10 <sup>-3</sup>	3	4,51	6,9	65,4	84	64	0,5	0,173	0,063	0,06
11	H-C	58	R-K	b, o, e	a	10 <sup>-4</sup>	10 <sup>-4</sup>	4	22,7	113	20	321	114	0,505	0,1	0,068	0,208
12	P-D	49	R-K, A	m, b, e, g	a, ki, ap, p, n, se, ka	10 <sup>-2</sup>	1	3	17,4	94,5	18,4	227	116	1,043	0,075	0,065	0,129
13	H-M	41	R-K	m, b, o	a, ki, p, ma, n	0,3 x 10 <sup>-1</sup>	10 <sup>-2</sup>	5	51,5	82,2	62,6	879	102	0,183	0,059	0,065	0,062
14	W-S	53	R-K, A	m, b	a	0,3 x 10 <sup>-2</sup>	0,3 x 10 <sup>-1</sup>	4	45,5	72,3	62,9	945	130	0,236	0,161	0,075	0,889
15	B-E	28	R-K	b, g	n, ma	1	10 <sup>-2</sup>	3	14	90,9	15,4	117	132	0,389	0,069	0,079	0,078
16	B-M	50	R-K	b, o, g	a, p	0,3 x 10 <sup>-2</sup>	10 <sup>-3</sup>	3	4,74	16,5	28,7	156	126	0,14	0,064	0,068	0,065
17	W-B	46	R-K	m, b, g, o, u, k	a, ka, k	10 <sup>-1</sup>	10 <sup>-1</sup>	4	21,4	91,3	23,4	107	100	0,344	0,086	0,075	0,111
18	S-B	40	R-K	b		1	1	2	1,65	NA	NA	117	78	0,113	0,061	0,065	0,074

Symptome: R, Rhinitis; K, Konjunktivitis; A, Asthma.  
 Positiver Prick-Test: m, Milben; b, Birke; o, Olive; g, Gras; u, Unkraut; e, Esche; k, Katze.  
 Nahrungsmittel-Allergie: a, Apfel; ap, Aprikose; ki, Kirsche; ma, Mandel; n, Nüsse; k, Kivi; se, Sellerie; ka, Karotte.  
 ID-Test, intradermaler Test; HF, Histamin-Freisetzung (Werte in µg/ml); c.p.m., "counts per minute", Zählungen pro Minute

**NACHGEREICHT**



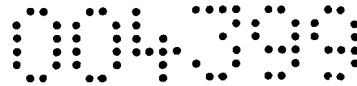
### *Gestaltung der Studie*

Um den möglichen Zusammenhang zwischen Allergen-spezifischen IgE-Mengen, der Haut-Empfindlichkeit und der basophilen Degranulation zu analysieren, wurde den Patienten Blut entnommen und ihre Haut am selben Tag getestet. Die Analysen erfolgten strikt außerhalb der Birkenpollen-Saison, um Wirkungen auf Grund eines saisonbedingten Allergen-Kontakts auszuschließen. Die Patienten durften mindestens 1 Woche vor Durchführung der Studie keine anti-allergischen oder entzündungshemmenden Medikamente nehmen. Keiner der Patienten hatte während der letzten 5 Jahre eine Allergen-spezifische Immuntherapie erhalten. Nach Abgabe einer Einverständnis-Erklärung wurde Blut für eine basophile Histamin-Freisetzung und für Serum-Proben entnommen. Unmittelbar danach wurden intradermale Haut-Tests unter Verwendung der Endpunkt-Titrationsmethode durchgeführt (Grammer L.C., et al., J. Allergy Clin. Immunol. (1985) 76:123-7).

### *Detektion und Quantifizierung Allergen-spezifischer Antikörper*

rBet v 1-spezifische IgE-Mengen wurden unter Verwendung des Pharmacia CAP-Systems quantifiziert und als kE/l ausgedrückt. Zusätzlich wurde eine <sup>125</sup>I-markierte rekombinante alpha-Kette des Hochaffinitäts-FcεRI zur Quantifizierung von Bet v 1-spezifischem IgE in einem Test auf RAST-Basis unter den Bedingungen eines Allergen-Überschusses verwendet. Die gereinigte alpha-Kette wurde mit Iod markiert unter Verwendung der Chloramin-T-Methode (Sambrook J., et al., Molecular cloning. Cold Spring Harbor: Cold Spring Harbor Laboratory Press, (1989); Laffer S. et al., J. Allergy Clin. Immunol. (2001) 108:409-16). Auf Nitrozellulose aufgepunktetes rBet v 1 (2mg pro Punkt) wurde zwei Serum-Verdünnungen (1:5 und 1:10) der Seren der allergischen Patienten in 50 mMol Natriumphosphat, pH 7,5, das 0,5% Gew./Vol. BSA, 0,5% V/V Tween 20 und 0,05% NaN<sub>3</sub> wie beschrieben enthielt (Valenta R. et al., J. Exp. Med. (1992) 175:377-85), ausgesetzt. Die gebundenen IgE-Antikörper wurden mit mit <sup>125</sup>I markierter alpha-Kette (100 000 Zählungen pro Minute (cpm)/ml) durch Inkubation über Nacht nachgewiesen und mittels gamma-Zählung quantifiziert. Alle Bestimmungen erfolgten im Duplikat, und die Ergebnisse sind in Mittelwerten (cpm) mit einer Abweichung von weniger als 10% ausgedrückt.

Die Mengen der Allergen-spezifischen Unterklassen IgG1 bis



IgG4 sowie die Mengen des Allergen-spezifischen IgM und IgA wurden mittels ELISA unter Verwendung von Isotypen-spezifischen monoklonalen Antikörpern, wie beschrieben (Vrtala S. et al., J. Allergy Clin. Immunol. (1996) 97:781-7), gemessen. Die Ergebnisse stellen die Mittelwerte von Duplikat-Bestimmungen dar und sind als OD-Werte gezeigt, die der Menge der gebundenen Antikörper entsprechen.

#### *Basophiler Histamin-Freisetzungstest*

Der Challenge von Vollblut mit rBet v 1 und anti-IgE als positive Kontrolle wurde in Dosis-Antwort-Form gemäß dem von Tanisaki et al. beschriebenen Verfahren durchgeführt (Tanisaki Y., et al., Int. Arch. Allergy Appl. Immunol. (1984) 73:141-5). Zehn Milliliter venöses Blut wurden in eine Plastik-Spritze, die 1 ml Heparin enthielt, aufgezogen. 250 µl verschiedener Konzentrationen von rBet v 1 (von  $10^{-4}$  bis 10 mg/ml) oder anti-IgE (von  $10^{-4}$  bis  $10^{-3}$ ; ε-spezifisch, Dako, Glostrup, Dänemark) wurden in die Teströhrchen zugegeben, die 500 ml Vollblut enthielten, das 1:4 in Tris-Puffer (10 mMol/l Tris, 136 mMol/l NaCl, 2,7 mMol/l KCl, 0,23 mMol/l MgCl<sub>2</sub>, 1,8 mMol/l CaCl<sub>2</sub>, 5,5 mMol/l Glucose; pH 7,3) verdünnt war. Die gemischte Lösung wurde 30 min lang bei 37°C inkubiert. Die Reaktion wurde gestoppt, und die Zellen wurden durch 5-minütiges kaltes Zentrifugieren (4°C) bei 375 x g abgetrennt. 200 µl des zellfreien Überstands wurden für die Histamin-Quantifizierung in einem Radioimmunoassay mit acylierten monoklonalen Histamin-Antikörpern (Immunotech, Marseille, Frankreich) verwendet, wie früher beschrieben (Morel A.M., et al., J. Allergy Clin. Immunol. (1988) 82:646-54). Das gesamte Histamin wurde nach Zelllyse durch wiederholtes Auftauen und Gefrieren gemessen. Alle Versuche wurden im Duplikat vorgenommen. Die verwendeten Parameter zur Beschreibung des Grades der basophilen Empfindlichkeit war die niedrigste Allergen-Konzentration, die 30% der gesamten Histamin-Freisetzung induzierte.

#### *Intradermales Testen*

Intradermale Schwellen-Hauttests wurden durch Injektion von 0,03 ml 10-facher Verdünnungen von rBet v 1 am seitlichen Teil des Armes durchgeführt. Serien-Verdünnungen wurden aus einer Lösung von 1000 mg/ml zubereitet, und die erste getestete Verdünnung war 10 mg/ml. Die Tests wurden 15 min nach der Injektion abgelesen. Die Fläche der Quaddel und des Erythems wurden aufge-



zeichnet. Der Test wurde als positiv angesehen, wenn die induzierte Quaddelfläche größer war als die durch Injektion induzierte Quaddel, und die niedrigste Konzentration des Allergens, die ein positives Test-Ergebnis hervorrief, wurde zum Vergleich mit anderen Parametern verwendet (Grammer L.C., et al., J. Allergy Clin. Immunol. (1985), 76:123-7).

#### *Statistische Analyse der Daten*

Die Korrelation zwischen verschiedenen Parametern wurde mittels Spearman s-nicht-parametrischer Tests unter Verwendung der VisualStats Professional Software (Version 2003) getestet.

#### Ergebnisse

##### *Geringer Zusammenhang zwischen rBet v 1-spezifischen Immunglobulin E-Mengen und Haut-Empfindlichkeit gegen rBet v 1*

Um die rBet v 1-spezifischen IgE-Mengen und die Haut-Empfindlichkeit zu vergleichen, wurden rBet v 1-spezifische IgE-Mengen mittels CAP gemessen und mit der Schwellen-Konzentration von rBet v 1, die eine positive Quaddel-Reaktion im intradermalen Test induzierte, korreliert. Fig. 1 zeigt, dass kein Zusammenhang zwischen Allergen-spezifischen IgE-Mengen und der Haut-Empfindlichkeit ( $r=-0,007$ ,  $P=0,977$ ) besteht. Bei einzelnen Patienten wurde eine starke Diskrepanz zwischen Allergen-spezifischem IgE und der Haut-Empfindlichkeit beobachtet. Beispielsweise wies Patient 8 eine hohe Bet v 1-spezifische IgE-Menge (79,9 kE/l) auf, zeigte aber eine positive ID-Reaktion erst bei 10  $\mu\text{g/ml}$  rBet v 1 (Tabelle 1). Andererseits hatte Patient 10 geringes rBet v 1-spezifisches IgE (4,5 kE/l), jedoch bei einer 1000-fach höheren Haut-Empfindlichkeit gegen Bet v 1 (positive ID-Test-Reaktion bei 1 ng/ml rBet v 1) als Patient 8. Sieben Patienten (2, 5, 7, 9, 11, 12 und 17) mit ähnlichen rBet v 1-spezifischen IgE-Mengen (17,1 26,6 kE/l) wiesen einen extrem breiten Bereich der Haut-Empfindlichkeit gegen rBet v 1 auf (von 3 bis  $10^{-5}$   $\mu\text{g/ml}$ ) (Tabelle 1).

##### *Geringer Zusammenhang zwischen rBet v 1-spezifischen Immunglobulin E-Mengen und rBet v 1-verwandter basophiler Empfindlichkeit*

Fig. 2 (IgE vs. 30% Histamin-Freisetzung) zeigt, dass auch ein Zusammenhang zwischen rBet v 1-spezifischen IgE-Mengen und durch Bet v 1-induzierter basophiler Empfindlichkeit fehlt (Fig. 2:  $r=-0,113$ ,  $P=0,656$ ). Die Konzentration von rBet v 1, die notwendig war, um 30% Histamin-Freisetzung zu induzieren, vari-

ierte von  $10^{-3}$  bis  $1 \mu\text{g/ml}$ . Für gegebenen Mengen an rBet v 1-spezifischem IgE (RAST Klasse 3: 4,51 17,1 kE/l) variierte die Konzentration von rBet v 1, die 30% Histamin-Freisetzung induzierte, 1000-fach ( $1 \cdot 10^{-3} \mu\text{g/ml}$ ).

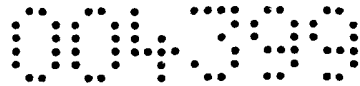
*Zusammenhang zwischen rBet v 1-induzierter basophiler Histamin-Freisetzung und Haut-Empfindlichkeit*

Fig. 3 zeigt, dass die Ergebnisse des intradermalen Testens und der basophilen Histamin-Freisetzung-Tests mehr zusammenhängen als die Ergebnisse serologischer und biologischer Tests. Es gibt einen signifikanten Trend zwischen den Konzentrationen von rBet v 1, die 30% Histamin-Freisetzung hervorrufen, und intradermalen Quaddel-Reaktionen ( $r=0,614$ ;  $P=0,007$ ). Patienten mit einem extrem schlechten Zusammenhang zwischen rBet v 1-spezifischen IgE-Mengen und Ergebnissen biologischer Tests (z.B. Patienten 8 und 10) zeigten einen besseren Zusammenhang, wenn intradermale Test-Ergebnisse mit basophiler Histamin-Freisetzung verglichen wurden (Tabelle 1). Die Ergebnisse anderer Tests, die durchgeführt wurden, um die Diskrepanzen zwischen serologischen und biologischen Tests zu erklären, sind nachstehend angegeben.

*Messungen von alpha-Ketten-gebundenem rBet v 1-spezifischem Immunglobulin E*

Um zu untersuchen, ob die Anwesenheit von biologisch inaktivem IgE (z.B. alpha-Ketten-gebundenes IgE) im Serum für die Diskrepanz zwischen Allergen-spezifischen IgE-Mengen und zellulärer sowie in vivo-Sensitivität verantwortlich sein könnte, wurde eine markierte alpha-Kette für die Quantifizierung von Allergen-spezifischem IgE verwendet (Tabelle 1). Es wurde eine gute Korrelation zwischen den Mengen an rBet v 1-spezifischem IgE, wie mittels CAP-Messungen und durch Verwendung markierter alpha-Ketten bestimmt wurde, beobachtet [für 1:5-Verdünnung  $r=0,888$ ;  $P=0,000$  (Fig. 4) und für 1:10-Verdünnung  $r=0,626$ ;  $P=0,005$ ]. Es wurde keine Verbesserung der Korrelation zwischen rBet v 1-spezifischen IgE-Mengen, die mit markierter alpha-Kette bestimmt wurden, und den Ergebnissen der Haut-Empfindlichkeit (für 1:5-Verdünnung:  $r=-0,108$ ;  $P=0,670$ ; für 1:10-Verdünnung:  $r=-0,013$ ;  $P=0,958$ ) oder zwischen rBet v 1-spezifischen IgE-Mengen, die mit markierter alpha-Kette bestimmt wurden, und den Histamin-Freisetzung-Tests beobachtet (für 1:5-Verdünnung:  $r=-0,229$ ;  $P=0,360$  und für 1:10-Verdünnung:  $r=-0,305$ ;  $P=0,219$ ).

*Messungen von rBet v 1-spezifischen Immunglobulin G-Unter-*



*klassen, Immunglobulin A und Immunglobulin M*

Es wurde beschrieben, dass die Seren von auf Bet v 1 allergischen Patienten Bet v 1-spezifische IgG-Antikörper enthalten, die die IgE-Bindung an Bet v 1 stören könnten oder andere Epitope am Bet v 1-Molekül als IgE erkennen könnten und folglich keine Auswirkung auf die IgE-Bindung an Bet v 1 haben (Visco V., et al., J. Immunol. (1996) 157:956-62; Denepoux S., et al. FEBS Lett. (2000) 465:39-46). Daher wurden die Mengen an rBet v 1-spezifischem IgG bestimmt (IgG1-IgG4; Tabelle 1). Die Patienten wiesen verschiedene rBet v 1-spezifische IgG1-IgG4-Unterklassen-Reaktionen auf, wobei die stärksten Reaktionen in den Unterklassen IgG1 und IgG4 waren. Es wurden keine signifikanten Mengen an rBet v 1-spezifischen IgA und IgM-Antikörpern in den Seren nachgewiesen, was die Möglichkeit ausschließt, dass diese Antikörper-Klassen die IgE-Erkennung von Bet v 1 beeinflussen könnten.

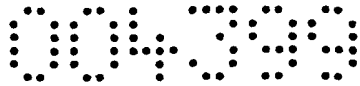
*Evaluierung von Bet v 1-spezifischem Immunglobulin E als Prozentsatz des gesamten Immunglobulin E*

Wenn Bet v 1-spezifisches IgE nur einen geringen Prozentsatz des gesamten IgE ausmacht, könnte die schwache Histamin-Freisetzung und Haut-Reaktivität dadurch erklärt werden, dass Basophile und Mastzellen vor allem durch IgE besetzt sind, das gegen andere Allergene gerichtet ist. Daher wurden die Gesamt-IgE-Werte bestimmt und der Prozentsatz des Bet v 1-spezifischen IgE berechnet. Die Patienten in diesem Beispiel hatten relativ niedrige Gesamt-IgE-Werte (<168kE/l), und es wurde kein Zusammenhang zwischen einem geringen Prozentsatz an Bet v 1-spezifischem IgE und schwachen biologischen Reaktionen gefunden. Beispielsweise machte bei Patient 11, der eine hohe Empfindlichkeit zeigte, das Bet v 1-spezifische IgE nur 20% des gesamten IgE aus. Andererseits war Patient 13 weniger empfindlich, obwohl 62,6% des gesamten IgE gegen Bet v 1 gerichtet waren (Tabelle 1).

Diskussion

Die Frage, ob Allergen-spezifische IgE-Antikörper-Mengen, Effektor-Zellen-Empfindlichkeiten und die klinische Empfindlichkeit korrelieren, bleibt umstritten. Mehrere Untersuchungen zeigten eine signifikante Korrelation von Allergen-spezifischen Serum-IgE-Antikörpern mit Allergen-induzierten Reaktionen vom unmittelbaren Typ selbst dann, wenn eine komplexe Mischung verschiedener allergener und nicht-allergener Komponenten verwendet

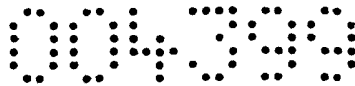
**NACHGEREICHT**



wurde, welche es schwer machen, Hauttests und RAST zu vergleichen (Stenius B., et al., Clin. Allergy (1971) 1:37-55; Bousquet J., et al., Clin Allergy (1987) 17:529-36; Norman, P.S., et al., J. Allergy Clin. Immunol. (1973) 52:210-24; Lichtenstein L.M. et al., J. Allergy Clin. Immunol. (1971) 47:103 (A37)). Kürzlich zeigten andere Untersuchungen unter Verwendung gereinigter Allergene (Witteman A.M., et al., J. Allergy Clin. Immunol. (1996) 97:16-25) und rekombinanter Allergene (Niederberger V, et al. J. Invest. Dermatol. (2001) 117:848-51) beträchtliche Diskrepanzen zwischen Antikörpermengen und biologischer Empfindlichkeit.

Eine klinische Studie unter Verwendung eines bestimmten gereinigten und strukturell gefalteten Allergens (z.B. dem Haupt-Birkenpollen-Allergen, Bet v 1) zur Untersuchung des Verhältnisses zwischen spezifischem IgE, Basophilen-Degranulation und Hautempfindlichkeit auf molekularer Ebene wurde durchgeführt. Man fand eine gute Übereinstimmung zwischen den drei Methoden <sup>eln</sup> ~~iken~~ und der klinischen Relevanz der Birken-Empfindlichkeit; jedoch wurden große Diskrepanzen zwischen den Mengen an Allergen-spezifischem IgE, der Basophilen-Empfindlichkeit und der Empfindlichkeit *in vivo* (d.h. der Haut-Empfindlichkeit, wie mittels Endpunkt-Titration bestimmt) festgestellt. Bei bestimmten Patienten wurden sehr geringe spezifische IgE-Mengen, jedoch eine hohe Empfindlichkeit bei der Basophilen-Degranulation und den Hauttests, und umgekehrt, beobachtet. Eine Überprüfung der Literatur offenbart die geringe Anzahl von Studien, die Hauttests, basophile Histamin-Freisetzung und die spezifischen IgE-Mengen vergleichen. Die wenigen zur Verfügung stehenden Studien zeigten sehr unterschiedliche Ergebnisse und wurden mit rohen Allergen-Extrakten durchgeführt. Beispielsweise stellten Norman et al. (Norman P.S., et al., J. Allergy Clin. Immunol. (1973) 52:210-24) fest, dass die drei Tests hinsichtlich der Diagnose von Ambrosie („ragweed“)-Heuschnupfen untereinander gut übereinstimmten. Lichtenstein et al. (Lichtenstein L.M., et al. J. Allergy Clin. Immunol. (1971) 47:103(A37)) stellten eine quantitativ signifikante Beziehung zwischen Hauttests und Histamin-Freisetzung fest. Bei diesem Beispiel wurde jedoch keine Messung von spezifischem IgE durchgeführt. Die Reaktion sensibilisierter Leukozyten und Mastzellen auf ein Antigen kann von einer großen Vielfalt von Faktoren abhängen.

Eine Möglichkeit für eine niedrige Sensibilität und eine



geringe Freisetzung von Histamin wäre, dass nur ein geringer Anteil des gesamten Serum-IgE das Allergen-spezifische IgE ausmacht. Daher wurden die IgE-Gesamt mengen bestimmt und der Prozentsatz von Allergen-spezifischem IgE berechnet. Man fand jedoch eine Verbindung zwischen niedrigen Prozentsätzen Allergen-spezifischer IgE-Reaktionen und einer geringen biologischen Aktivität. Die Möglichkeit, dass ein niedriger Prozentsatz des spezifischen IgE aus dem gesamten IgE für geringe biologische Reaktionen gegenüber dem bestimmten Allergen verantwortlich sein könnte, kann bei polysensibilisierten Subjekten von größerer Wichtigkeit sein (Norman P.S., et al., J. Allergy Clin. Immunol. (1973) 52:210-24; Conroy M.C., et al., J. Immunol. (1977) 118:1317-21; MacGlashan D.W. Jr., et al., J. Immunol. (1986) 136:2231-9).

Um sich mit der Möglichkeit zu befassen, dass die Diskrepanz zwischen Allergen-spezifischen IgE-Mengen und biologischen Test-Ergebnissen auf das Vorhandensein Allergen-reaktiver IgE-Antikörper, die nicht an Mastzellen und Basophile binden können und daher keine Freisetzung der biologischen Mediatoren induzieren, zurückzuführen sein könnte, wurden auch IgE-Messungen mit gereinigter rekombinanter alpha-Kette der Hochaffinitäts-FcεR für IgE durchgeführt. Dies beruhte auf der Annahme, dass die alpha-Kette biologisch aktives IgE detektiert, das an FcεRI an Effektor-Zellen binden und eine Mediator-Freisetzung induzieren kann. Weiters kann in Seren vorhandener löslicher FcεRI an IgE binden und eine biologisch inaktive Form von IgE erzeugen. Die Ergebnisse Allergen-spezifischer IgE-Messungen, die mit gereinigter alpha-Kette durchgeführt wurden, zeigten auch das Fehlen einer Verbindung zwischen der Größe der IgE-Mengen und der biologischen Empfindlichkeit. Eine andere Möglichkeit, die man derzeit nicht ausschließen kann, ist, dass Allergen-spezifische Antikörper einer anderen Klasse als IgE die Bindung für Allergene störte.

Es gibt mehrere andere Faktoren, die für die Diskrepanz zwischen Allergen-spezifischen IgE-Mengen und den biologischen Reaktionen verantwortlich sein können, aber sie können nicht angesprochen werden, nicht einmal in in einem System, bei welchem gereinigte Allergene verwendet werden. Sie umfassen interindividuelle Unterschiede in den Basophilen- und Mastzellen-Empfindlichkeiten wegen der Variabilität der IgE-Rezeptor-Zellober-



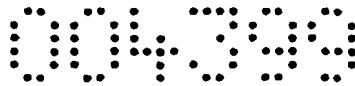
flächen-Dichte, einem Parameter, der durch Serum-IgE-Mengen reguliert wird (Conroy M.C., et al., J. Immunol. (1977) 118:1317-21; Malveaux F.J., et al., J. Clin. Invest. (1978) 62:176-81; Dembo M., et al., J. Immunol. (1978) 121:345-53; MacGlashan D.W. Jr., et al., J. Allergy Clin. Immunol. (1999) 104:492-8). Verschiedene Zell-Empfindlichkeiten wurden durch variable Verschiebungen der Dosis-Antwort-Kurven gezeigt (gemessen mit 50% oder 30% Empfindlichkeit) im Falle ähnlicher Gesamt- und Antigen-spezifischer IgE-Serum-Konzentrationen (Conroy M.C., et al., J. Immunol. (1977) 118:1317-21; MacGlashan DW Jr., J. Allergy Clin. Immunol. (1993) 91:605-15).

Weiters zeigte es sich, dass Personen mit äquivalenten Anzahlen von IgE-Molekülen auf Basophilen 0-100% ihres Histamin-Gehalts freisetzen können (Conroy M.C., et al., J. Immunol. (1977) 118:1317-21). Dasselbe wurde für Haut-Mastzellen beobachtet (Petersen L.J., et al., J. Allergy Clin. Immunol. (1996) 97:672-9; Bordignon V., et al., Invest. Allergol. Clin. Immunol. (2000) 10:78-82). Außerdem zeigte es sich, dass frühe Signal-Ereignisse stattfinden, an welchen Sykkinase und IP3-Produkte beteiligt sind, welche nicht mit der Menge an spezifischem IgE oder der Basophilen-Empfindlichkeit in Verbindung stehen (MacGlashan D.W. Jr., J. Allergy Clin. Immunol. (1993) 91:605-15; Miura K., et al., J. Immunol. (2001) 167:7027; MacGlashan D.W. Jr., J. Immunol. (2003) 170:4914-25).

Jüngste Beweise lassen darauf schließen, dass Mastzellen auch über Toll-like-Rezeptoren beeinflusst sein können (Marshall J.S., et al., Int. Arch. Allergy Immunol. (2003) 132:87-97). Das für die Versuche verwendete rBet v 1-Präparat enthielt jedoch keine Endotoxine.

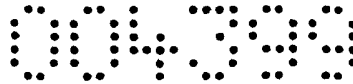
Schließlich ist es noch möglich, dass das Vorhandensein von IgE-Antikörpern mit verschiedenen Affinitäten oder Bindungs-Spezifitäten für Epitope, die unterschiedliche anaphylaktische Aktivität induzieren, die serologischen und biologischen Test-ergebnisse beeinflusst haben könnte.

Zusammenfassend zeigt diese Studie auf molekularer Ebene, dass Allergen-spezifische Serum-IgE-Mengen nicht unbedingt mit der biologischen Empfindlichkeit in Beziehung stehen müssen, wie mittels Zell- und *in vivo*-Tests festgestellt wurde. Man fand jedoch einen moderaten Zusammenhang zwischen den Haut-Tests und den basophilen Histamin-Freisetzungstests.



**Beispiel 2:**

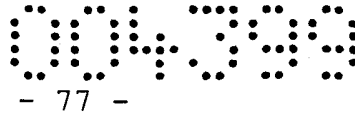
Um die Empfindlichkeit eines Patienten vor der Therapie zu bestimmen, um die Wahl der richtigen Dosis zu ermöglichen, wird ein Vollblut-Basophilen-Histamin-Freisetzung-Test verwendet. Hochempfindliche Patienten bekommen geringere Dosen injiziert als weniger empfindliche Patienten. Vor der Behandlung wird eine Dosis-Antwort-Kurve mit gereinigtem Allergen erstellt. Parallel dazu werden Zellen mit anti-IgE stimuliert, um die gesamte Zell-Empfindlichkeit zu bestimmen, die die Empfindlichkeit gegenüber dem Allergen beeinflussen kann. Der Erfolg der Behandlung sollte kontrolliert werden, nachdem IgG-Antikörper gegen das Allergen nachweisbar werden, was gewöhnlich nach 4-8-wöchiger Behandlung der Fall ist. Da die Blockierung von IgG-Antikörpern für die Verringerung der Empfindlichkeit verantwortlich sein kann, kann es günstig sein, parallel dazu die IgG-Mengen gegen das bestimmte Allergen zu bestimmen. Wiederum wird eine Dosis-Antwort mit dem gereinigten Allergen und anti-IgE bestimmt. Entweder wird die Dosis, die die maximale Zell-Aktivierung ergibt (d.h., die maximale Histamin-Freisetzung oder CD203c-Aufwärtsregulierung) verglichen, oder es wird die Dosis festgestellt, die einen bestimmten Grad an Aktivierung ergibt, und mit dem vor Behandlung erhaltenen Testergebnis verglichen. Die Materialien und Methoden sind so wie in Beispiel 1 beschrieben.



Patentansprüche:

1. Verfahren zur Evaluierung der Allergen-Empfindlichkeit eines Individuums und/oder der klinischen Wirksamkeit einer Allergen-Immuntherapie, umfassend die Schritte
  - Vorsehen von mindestens zwei Proben von einem Individuum, das einer Immuntherapie mit mindestens einem reinen Allergen oder einem Derivat davon unterzogen wurde oder unterzogen werden soll, wobei die Proben Zellen enthalten, die Mediatoren als Antwort auf dieses Allergen freisetzen können,
  - Kontaktieren der Probe mit dem Allergen oder dem Derivat davon, und
  - Bestimmen der Mengen der aus der Probe freigesetzten Mediatoren und Evaluieren der Allergen-Empfindlichkeit des Individuums vor der Therapie und/oder der klinischen Wirksamkeit der Immuntherapie durch Vergleichen dieser Mengen.
2. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass die Mediatoren ausgewählt sind aus der Gruppe bestehend aus Histamin, Tryptase, Prostaglandinen, Leukotrienen, insbesondere Cysteinyl-Leukotrienen, kationischem eosinophilem Protein, Cytokinen, wie Interleukinen (IL), insbesondere IL-2R, CD63, CD203c und Kombinationen davon.
3. Verfahren nach Anspruch 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, dass die Probe Blut oder Fraktionen davon, Bindegewebe, Nasen-, Bronchien-, Haut- oder Darm-Biopsie-Material ist.
4. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, dass die Zellen aus der Probe isoliert werden.
5. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 4, dadurch gekennzeichnet, dass die Zellen Mast- und/oder basophile und/oder eosinophile Zellen sind.
6. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 5, dadurch gekennzeichnet, dass die Probe weiters Immunglobuline (Ig), insbesondere Immunglobulin G (IgG) umfasst.
7. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 6, dadurch gekenn-

**NACHGEREICHT**



zeichnet, dass die Proben vorgesehen werden, bevor und nachdem das Individuum einer Immuntherapie unterzogen wurde.

8. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 7, dadurch gekennzeichnet, dass die Proben vorgesehen werden, nachdem das Individuum einer Immuntherapie unterzogen wurde.

9. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 6, dadurch gekennzeichnet, dass die mindestens eine Probe vorgesehen wird nach einem Maximum von 1 Stunde, 12 Stunden, 24 Stunden, 10 Tagen, 4 Wochen, 6 Monaten und 36 Monaten, nachdem das Individuum einer Immuntherapie unterzogen wurde.

10. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 9, dadurch gekennzeichnet, dass das Allergen rekombinant erzeugt wird.

11. Verfahren nach Anspruch 10, dadurch gekennzeichnet, dass das Allergen mindestens eine Deletion, mindestens eine Substitution oder mindestens eine Insertion umfasst.

12. Verfahren nach Anspruch 10, dadurch gekennzeichnet, dass das Allergen durch Umordnen („reshuffling“) der Fragmente des Allergens mittels Gentechnik modifiziert wird.

13. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 12, dadurch gekennzeichnet, dass die Probe mit verschiedenen Konzentrationen des Allergens kontaktiert wird.

14. Verfahren nach Anspruch 13, dadurch gekennzeichnet, dass die Konzentration des Allergens ausgewählt wird im Bereich von 1ng/ml bis 100µg/ml, vorzugsweise im Bereich von 1pg/ml bis 10µg/ml.

15. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 14, dadurch gekennzeichnet, dass weiters die gesamte Menge des Mediators der Zellen bestimmt wird.

16. Verfahren nach Anspruch 15, dadurch gekennzeichnet, dass ein Grad der zellulären Sensibilisierung definiert wird durch Bestimmen der Konzentration des Allergens, die die Freisetzung

von 10%, vorzugsweise 30%, der Gesamtmenge des Mediators der Zellen induziert.

17. Verfahren nach Anspruch 16, dadurch gekennzeichnet, dass die Allergen-Empfindlichkeit eines Individuums und/oder die klinische Wirksamkeit einer Allergen-Immuntherapie durch Beobachten des Grades der zellulären Sensibilisierung im Verlauf der Immuntherapie evaluiert wird.

18. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 17, dadurch gekennzeichnet, dass der Mediator in der Probe durch ein immunologisches und/oder ein chromatographisches Verfahren bestimmt wird.

19. Verfahren nach Anspruch 18, dadurch gekennzeichnet, dass das Verfahren ausgewählt wird aus der Gruppe bestehend aus Radioimmunoassay (RIA), Enzyme-linked Immunosorbens-Assay (ELISA), Hochleistungs-Flüssigkeits-Chromatographie (HPLC), Reverse-Transkriptase-Polymerase-Kettenreaktion, Immunfluoreszenz-Strömungs-Zytometrie und Kombinationen davon.

20. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 17, dadurch gekennzeichnet, dass das Allergen ausgewählt wird aus der Gruppe der Profiline, insbesondere Phl p 12, Birken-Allergene, insbesondere Bet v 4, Staubmilben-Allergene, insbesondere Der p2, Vorratmilben-Allergene, insbesondere Lep d 2, Wiesenlieschgras-Allergene, insbesondere Phl p 7.

21. Set zur Evaluierung der Allergen-Empfindlichkeit eines Individuums oder der klinischen Wirksamkeit einer Allergen-Immuntherapie für mindestens eine Allergie, umfassend

- mindestens ein Allergen zum Induzieren einer Mediator-Freisetzung von Zellen, die den Mediator als Antwort auf ein Allergen freisetzen können,

- Mittel zur Detektion des Mediators, und

- gegebenenfalls mindestens einen Mediator-Standard.

22. Set nach Anspruch 21, dadurch gekennzeichnet, dass die Zellen Mastzellen und/oder basophile und/oder eosinophile Zellen sind.

23. Set nach Anspruch 21 oder 22, dadurch gekennzeichnet, dass das Allergen ausgewählt ist aus der Gruppe bestehend aus Profilinen, insbesondere Phl p 12, Birken-Allergenen, insbesondere Bet v 4, Staubmilben-Allergenen, insbesondere Der p2, Vorratsmilben-Allergenen, insbesondere Lep d 2, Wiesenlieschgras-Allergenen, insbesondere Phl p 7.

24. Set nach einem der Ansprüche 20 bis 23, dadurch gekennzeichnet, dass die Mittel zur Detektion des Mediators ausgewählt sind aus der Gruppe bestehend aus Antikörpern.

**NACHGEREICHT**

004399

12

1/2

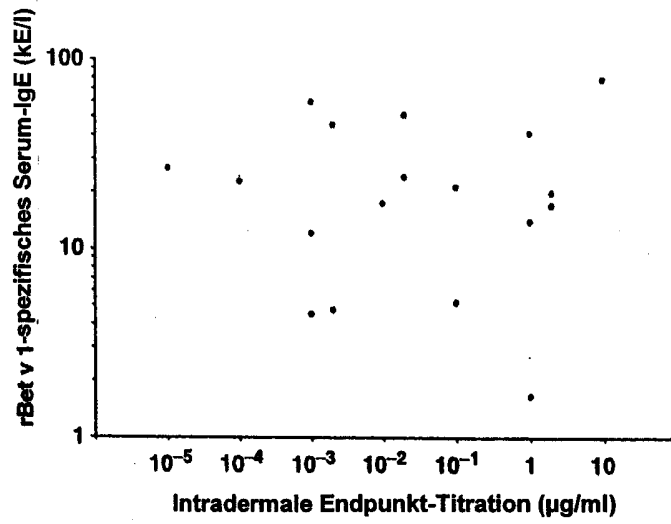


Fig. 1.

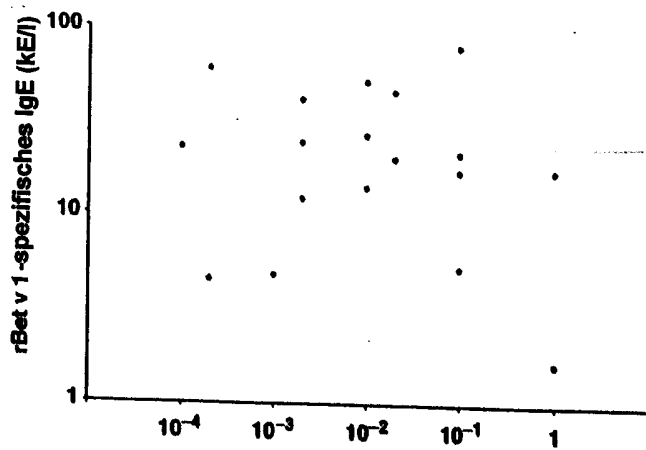


Fig. 2.

004399

12

2/2

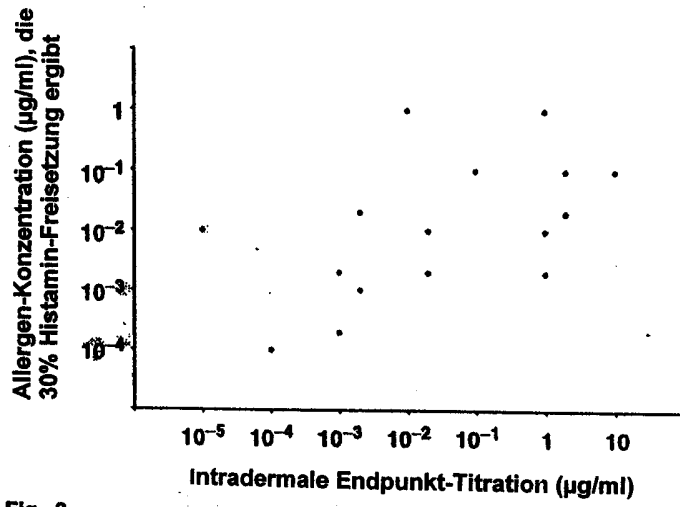


Fig. 3.

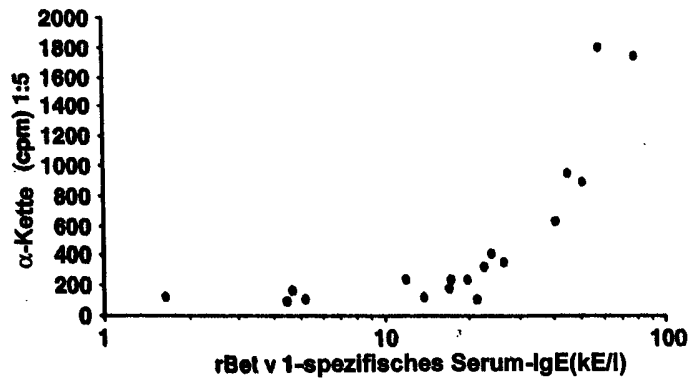


Fig. 4.

## Patentansprüche:

1. Verfahren zur Evaluierung der Allergen-Empfindlichkeit eines Individuums und/oder der klinischen Wirksamkeit einer Allergen-Immuntherapie, umfassend die Schritte
  - Vorsehen von mindestens zwei Proben ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus Blut oder Fraktionen davon, Bindegewebe, Nasen-, Bronchien-, Haut- und Darm-Biopsie-Material von einem Individuum, das einer Immuntherapie mit mindestens einem reinen Allergen oder einem Derivat davon oder mit mindestens einem Allergen-Extrakt unterzogen wurde oder unterzogen werden soll, wobei die Proben Zellen enthalten, die Mediatoren als Antwort auf dieses Allergen freisetzen können,
  - Kontaktieren der Probe mit dem Allergen oder dem Derivat davon, und
  - Bestimmen der Mengen der aus der Probe freigesetzten Mediatoren und Evaluieren der Allergen-Empfindlichkeit des Individuums vor der Therapie und/oder der klinischen Wirksamkeit der Immuntherapie durch Vergleichen dieser Mengen.
2. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass die Mediatoren ausgewählt sind aus der Gruppe bestehend aus Histamin, Tryptase, Prostaglandinen, Leukotrienen, insbesondere Cysteinyl-Leukotrienen, kationischem eosinophilem Protein, Cytokinen, wie Interleukinen (IL), insbesondere IL-2R, CD63, CD203c und Kombinationen davon.
3. Verfahren nach Anspruch 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, dass die Zellen Mast- und/oder basophile und/oder eosinophile Zellen sind.
4. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, dass die Probe weiters Immunglobuline (Ig), insbesondere Immunglobulin (IgG) umfasst.
5. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 4, dadurch gekennzeichnet, dass die Proben vorgesehen werden, bevor und nachdem das Individuum einer Immuntherapie unterzogen wurde.
6. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 5, dadurch gekenn-

**NACHGEREICHT**

zeichnet, dass die Proben vorgesehen werden, nachdem das Individuum einer Immuntherapie unterzogen wurde.

7. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 4, dadurch gekennzeichnet, dass die mindestens eine Probe vorgesehen wird nach einem Maximum von 1 Stunde, 12 Stunden, 24 Stunden, 10 Tagen, 4 Wochen, 6 Monaten und 36 Monaten, nachdem das Individuum einer Immuntherapie unterzogen wurde.

8. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 7, dadurch gekennzeichnet, dass das Allergen rekombinant erzeugt wird.

9. Verfahren nach Anspruch 8, dadurch gekennzeichnet, dass das Allergen mindestens eine Deletion, mindestens eine Substitution oder mindestens eine Insertion umfasst.

10. Verfahren nach Anspruch 8, dadurch gekennzeichnet, dass das Allergen durch Umordnen („reshuffling“) der Fragmente des Allergens mittels Gentechnik modifiziert wird.

11. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 10, dadurch gekennzeichnet, dass die Probe mit verschiedenen Konzentrationen des Allergens kontaktiert wird.

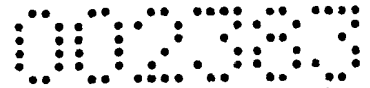
12. Verfahren nach Anspruch 11, dadurch gekennzeichnet, dass die Konzentration des Allergens ausgewählt wird im Bereich von 1ng/ml bis 100µg/ml, vorzugsweise im Bereich von 1pg/ml bis 10µg/ml.

13. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 12, dadurch gekennzeichnet, dass weiters die gesamte Menge des Mediators der Zellen bestimmt wird.

14. Verfahren nach Anspruch 13, dadurch gekennzeichnet, dass ein Grad der zellulären Sensibilisierung definiert wird durch Bestimmen der Konzentration des Allergens, die die Freisetzung von 10%, vorzugsweise 30%, der Gesamtmenge des Mediators der Zellen induziert.

15. Verfahren nach Anspruch 14, dadurch gekennzeichnet, dass

**NACHGEREICHT**



die Allergen-Empfindlichkeit eines Individuums und/oder die klinische Wirksamkeit einer Allergen-Immuntherapie durch Beobachten des Grades der zellulären Sensibilisierung im Verlauf der Immuntherapie evaluiert wird.

16. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 15, dadurch gekennzeichnet, dass der Mediator in der Probe durch ein immunologisches und/oder ein chromatographisches Verfahren bestimmt wird.

17. Verfahren nach Anspruch 16, dadurch gekennzeichnet, dass das Verfahren ausgewählt wird aus der Gruppe bestehend aus Radioimmunoassay (RIA), Enzyme-linked Immunosorbens-Assay (ELISA), Hochleistungs-Flüssigkeits-Chromatographie (HPLC), Reverse-Transkriptase-Polymerase-Kettenreaktion, Immunfluoreszenz-Strömungs-Zytometrie und Kombinationen davon.

18. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 15, dadurch gekennzeichnet, dass das Allergen ausgewählt wird aus der Gruppe der Allergene der Tabelle 1, insbesondere der Birkenpollenallergene, insbesondere Bet v 1, der Wiesenlieschgrasallergene, insbesondere Phl p 1, Phl p 2, Phl p 5, Phl p 6 und Phl p 7, der Hausstaubmilben-Allergene, insbesondere Der p 1 und Der p 2, der Katzenallergene, insbesondere Fel d 1, der Bienen-Allergene, der Wespenallergene, der Profiline, insbesondere Phl p 12, der Vorratsmilben-Allergene, insbesondere Lep d 2, der Unkrautpollenallergene, insbesondere Art v 1 und Amb a 1, und der Hundeallergene, insbesondere Can f 1 und Can f 2.

19. Set zur Evaluierung der Allergen-Empfindlichkeit eines Individuums oder der klinischen Wirksamkeit einer Allergen-Immuntherapie für mindestens eine Allergie, umfassend

- mindestens ein Allergen zum Induzieren einer Mediator-Freisetzung von Zellen, die den Mediator als Antwort auf ein Allergen freisetzen können,
- Mittel zur Detektion des Mediators, und
- gegebenenfalls mindestens einen Mediator-Standard.

20. Set nach Anspruch 19, dadurch gekennzeichnet, dass die Zellen Mastzellen und/oder basophile und/oder eosinophile Zellen

sind.

21. Set nach Anspruch 19 oder 20, dadurch gekennzeichnet, dass das Allergen ausgewählt ist aus der Gruppe bestehend aus Allergene der Tabelle 1, insbesondere Birkenpollenallergene, insbesondere Bet v 1, Wiesenlieschgrasallergene, insbesondere Phl p 1, Phl p 2, Phl p 5, Phl p 6 und Phl p 7, Hausstaubmilben-Allergene, insbesondere Der p 1 und Der p 2, Katzenallergene, insbesondere Fel d 1, Bienen-Allergene, Wespenallergene, Profiline, insbesondere Phl p 12, Vorratsmilben-Allergene, insbesondere Lep d 2, Unkrautpollenallergene, insbesondere Art v 1 und Amb a 1, und Hundeallergene, insbesondere Can f 1 und Can f 2.

22. Set nach einem der Ansprüche 19 bis 21, dadurch gekennzeichnet, dass die Mittel zur Detektion des Mediators ausgewählt sind aus der Gruppe bestehend aus Antikörpern.

**NACHGEREICHT**



Klassifikation des Anmeldungsgegenstands gemäß IPC <sup>8</sup> : <b>G01N 33/50 (2006.01); G01N 33/53 (2006.01)</b>		
Recherchierter Prüfstoff (Klassifikation): <b>G01N</b>		
Konsultierte Online-Datenbank: <b>EPODOC, WPI, PAJ, Internet, Pubmed</b>		
Dieser Recherchenbericht wurde zu den am <b>28. April 2005</b> eingereichten Ansprüchen <b>1-24</b> erstellt.		
Kategorie <sup>7)</sup>	Bezeichnung der Veröffentlichung: Ländercode, Veröffentlichungsnummer, Dokumentart (Anmelder), Veröffentlichungsdatum, Textstelle oder Figur soweit erforderlich	Betreffend Anspruch
X	Skov-Stahl P, Norh S, Weeke B. "Basophil histamine release in patients with hay fever. Results compared with specific IgE and total IgE during immunotherapy." Clin Exp Immunol. 1977 Mar;27(3):432-9. <i>*Ganzes Dokument, besonders Seite 433 2ter und 3ter Absatz, Seite 435 1ter Absatz, Figure 6*</i>	1-24
Y	Valenta R. "Recombinant allergen-based concepts for diagnosis and therapy of type I allergy." Allergy. 2002;57 Suppl 71:66-7. <i>*Ganzes Dokument*</i>	10-12
X	Renz H, Becker WM, Bufo A, Kleine-Tebbe J, Raulf-Heimsoth M, Saloga J, Werfel T, Worm M. Positionspapier der DGAI zur in-vitro Allergiediagnostik. In: Positionspapier der Arbeitsgruppe "In-vitro Allergie-Diagnostik" der Sektion Immunologie. Allergo Journal, 11: 492-506, 2002 <i>*Seite 500-zweite Spalte-3ter Absatz bis Seite 502-1te Spalte-3ter Absatz*</i>	2,3
Datum der Beendigung der Recherche: <b>23. November 2005</b>		<input type="checkbox"/> Fortsetzung siehe Folgeblatt
		Prüfer(in): <b>Dr. GÖRNER</b>
<sup>7)</sup> Kategorien der angeführten Dokumente:		
X	Veröffentlichung von <b>besonderer Bedeutung</b> : der Anmeldegegenstand kann allein aufgrund dieser Druckschrift nicht als neu bzw. auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden.	A
Y	Veröffentlichung von <b>Bedeutung</b> : der Anmeldegegenstand kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren weiteren Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese <b>Verbindung für einen Fachmann naheliegend</b> ist.	P
		E
		&
		A
		P
		E
		&