

Abstract

Durch Immunisierungsreihen von Kaninchen und Enten mit einem Fusionsprotein aus RT6 und β -Galaktosidase wurde eine Immunantwort auf das Targetprotein erzielt. Das zunächst polyklonale Antikörpergemisch wurde erfolgreich affinitätsgereinigt und mit affinitätschromatographisch aufgereinigten RT6-spezifischen Antikörpern gelang die Detektion des RT6 der Ratte. Für diese Versuche wurden Lymphknotenpräparationen durchgeführt und das gewonnene Zellmaterial nach Solubilisierung durch die SDS-PAGE größenfraktioniert. Der Nachweis des RT6 erfolgte mittels Western-Blot Immunodetektion an unterschiedlichen Membranen, es wurden sowohl Nitrocellulose als auch PVDF Membranen erfolgreich eingesetzt, und mit verschiedenen Immunoblotverfahren gelang die Etablierung eines Labor-Standards.

Im Verlauf dieser Dissertation wurde ein Verfahren der Aufreinigung der polyklonalen Seren etabliert, dass die Selektion hochspezifischer und affiner RT6 Antikörper auf der Basis der Affinitätschromatographie ermöglichte. Die so aufgereinigten Antikörper wurden für die Detektion von RT6 bei der Maus und dem Menschen eingesetzt. Tatsächlich reagierten die Antikörper mit einer Bande aus mit Maus RT6 transformierten E. coli. In späteren Versuchen konnte von anderen Mitarbeitern mit diesen Antikörpern auch bei T-Zellen der Maus zwei RT6-homologe Proteine nachgewiesen werden (Willer 96, Hollmann et al. 1996).

Beim Menschen konnte in späteren Versuchen gezeigt werden, dass das RT6 Oberflächenprotein nicht exprimiert wird und sich daher nur auf DNA Ebene nachweisen ließ (Haag 95).

Vor wenigen Jahren gelang es eine ADP-Ribosyltransferase im Skelettmuskels des Kaninchen nachzuweisen. Datenbankrecherchen ergaben eine hohe Homologie zum RT6. In verschiedenen Versuchen konnte inzwischen gezeigt werden, dass es sich dabei um extrazelluläre Proteine mit GPI-Anker handelt, so wie es in den bisherigen Versuchen auch gefunden wurde (Koch 86, Koch 90). Neuere Untersuchungen zeigen, dass ADP-Ribosylierungsreaktionen auf der T-Zelloberfläche die Ausbildung der immunologischen Synapse verhindern können (Liu 99) und eröffnen somit vielleicht für die Zukunft ein Ziel pharmakologischer Beeinflussung durch gezielte Therapie mit Hilfe von Antikörpern (Haag 99).