



Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg
Fakultät für Klinische Medizin Mannheim
Dissertations-Kurzfassung

**Untersuchung zur Entwicklung und Charakterisierung
monoklonaler Antikörper gegen niedermolekulares Dermatansulfat**

Autor: Orell A. V. L. H. Mielke
Einrichtung: I. Medizinische Klinik
Doktorvater: Prof. Dr. J. Mielke

Dermatansulfat, ein Glykosaminoglykan, besitzt ähnlich dem Heparin eine antikoagulatorische Wirkung durch Hemmung des Thrombins unter katalytischer Beteiligung des Heparin-Cofaktors-II. Aufgrund einiger biochemischer Besonderheiten, bietet es im Vergleich zum unfraktionierten Heparin einige Vorteile, wie niedrigeres hämorrhagisches Risiko und gute Bioverfügbarkeit bei oraler Gabe. In dieser Arbeit wurde der Versuch unternommen, einen monoklonalen Antikörper gegen Dermatansulfat herzustellen und zu charakterisieren. Monoklonale Antikörper spielen eine herausragende Rolle in der Diagnostik und zunehmend auch in der Therapie.

Durch intraperitoneale Immunisierung von männlichen balb/c Mäusen mit nativem Dermatansulfat, tyraminisiertem Dermatansulfat und an Rinderserum-gebundenes Dermatansulfat wurde versucht eine Immunreaktion auf das injizierte Antigen in den Mäusen hervorzurufen. Dies gelang wie auch erwartet worden war bei den mit Rinderserum-Dermatansulfat immunisierten Mäusen, hier fand sich eine leichte Tracerbindung nach 36 Tagen des Immunisierungsschemas. Nach weiterer Immunisierung und Milzextirpation an Tag 86 wurden die Milzzellen mit Myelomzellen der Maus hybridisiert, um die Antikörperproduzierenden B-Lymphozyten der Maus zu immortalisieren. Durch Ausnutzung eines Stoffwechseldefekts der Myelomzellen, konnten die Hybridomzellen isoliert werden.

Von diesen Zellkulturen wurde bei positivem Zellwachstum Kulturüberstand auf Antikörperproduktion im RIA untersucht. Hierbei zeigte sich besonders bei Maus 9 eine leichte Tracerbindung, die auf einen Antikörper rückschließen ließ. Zur Erreichung der Monoklonalität wurden diese Zellpopulationen zweimal mittels der Dilution-Cloning Methode verdünnt. Abermalige Kulturüberstandmessung ergaben Antikörperproduktion der Zelllinien 1-11, 1-13 sowie 3-8 und 4-2 von Maus 9.

Zur Sicherung der Spezität und Sensitivität des gewonnenen Antikörpers wurde in einem kompetitiven Assay natives Dermatansulfat dem Versuchsansatz zugefügt, wobei bei zunehmender Konzentration des nativen Dermatansulfat, das radioaktiv-markierte Dermatansulfat von Antikörper verdrängt werden konnte. Heparine und einige Glykosaminoglykane kreuzreagierten nicht mit dem Dermatansulfat-Antikörper, jedoch fand sich bei Chondrotinsulfat A (welches starke Strukturähnlichkeit zu Dermatansulfat besitzt) eine leichte Konkurrenz um die Bindungsstelle des Antikörpers.

In der vorliegenden Arbeit ist es gelungen, einen monoklonalen Antikörper gegen niedermolekulares Dermatansulfat herzustellen, der eine Spezifität sowohl gegen das Antigen selbst als auch zu unfraktioniertem und niedermolekularem Heparinen aufweist.