

Beatrice Wegendt

Dr. med.

## **Herstellung und Charakterisierung monoklonaler Antikörper zum Nachweis von Bone Morphogenetic Protein-4**

Geboren am 13.12.1974 in Esslingen am Neckar

Reifeprüfung am 14.06.1994 in Kirchheim unter Teck

Studiengang der Fachrichtung Medizin vom WS 1994 bis WS 2001

Physikum am 27.08.1996 an der Universität Ulm

Klinisches Studium in Heidelberg

Praktisches Jahr in Schwäbisch Hall und Inverness, Schottland

Staatsexamen am 07.11.2001 an der Universität Heidelberg

Promotionsfach: Immunologie

Doktorvater: Prof. Dr. rer. nat. R. Wallich

Die Gruppe der Bone Morphogenetic Proteins (BMP) wurde 1965 von Urist et al. aufgrund ihrer Fähigkeit, an ektopter Stelle Knochenneubildung zu induzieren, beschrieben. Die Funktionen dieser Proteine aus der TGF- $\beta$ -Superfamilie sind sehr vielfältig und reichen von der Morphogenese in der Embryogenese bis hin zu Reparationsprozessen in Knochen und Knorpel. In vielen Experimenten wird die Relevanz von BMP2, BMP4 und BMP7 für die Knochen- und Knorpelregeneration deutlich.

Im Rahmen dieser Arbeit wurde Bone Morphogenetic Protein-4 (BMP4) als rekombinantes Protein synthetisiert. Weitere Ziele der Arbeit waren die Produktion und Charakterisierung monoklonaler Antikörper gegen BMP4 und die Entwicklung eines Nachweissystems für dieses Protein.

Die Synthese des BMP4/GST-Fusionsproteins erfolgte über ein prokaryontisches System. Aufgrund sich bildender „inclusion bodies“ wurde die Proteinaufreinigung über Gelelektrophorese bewerkstelligt.

Balb/c-Mäuse wurden mit BMP4/GST immunisiert. Zur Isolierung der monoklonalen Antikörper wurden die Hybridomzellen im „limiting-dilution“-Verfahren ausgesät und ihre Kulturüberstände unterschiedlichen immunologischen Tests unterzogen (ELISA, Western-Blot).

Die drei BMP4-spezifischen monoklonalen Antikörper F4, C3 und G1 wurden näher charakterisiert: Sie gehören der Subklasse IgG1 an. In der Epitopenalyse zeigt sich eine partielle Konkurrenz zwischen F4 und C3, was auf die Bindung überlappender Epitope schließen läßt.

Mit einem Sandwich-ELISA unter Verwendung der beiden monoklonalen Antikörper F4 und C3 wurde ein immunologisches Nachweisverfahren für gelöstes BMP4 entwickelt. Die Nachweisgrenze für BMP4/GST lag bei 0,1 µg/ml.

Unter Anwendung der monoklonalen Antikörper F4 und C3 wurde BMP4 mittels indirekter Immunfluoreszenz in BMP4-synthetisierenden Zellen nachgewiesen.

Das rekombinante BMP4 und die monoklonalen Antikörper können somit als Werkzeuge für die weitere Erforschung der BMPs, als mögliches Diagnostikum sowie zukünftig zur Qualitätssicherung bei Therapieansätzen dienen.