

Neil Holland

Dr. med.

Monoklonale Antikörper zum Nachweis von Bone Morphogenetic Protein – 7

Geboren am 08.12.1975 in Siliguri/Indien

Staatsexamen am 20.11.2002 an der Universität Heidelberg

Promotionsfach: Immunologie

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

Das Arthrose-Projekt des Instituts für Immunologie Heidelberg in Zusammenarbeit mit der Orthopädie Aachen erforderte, erstens ein Expressionssystem und zweitens ein Nachweisverfahren für den Wachstums- und Differenzierungsfaktor BMP-7 zu etablieren.

In der vorliegenden Arbeit wurde in einem prokaryontischen Expressionssystem rekombinantes humanes BMP-7 synthetisiert und nach Immunisierung einer Balb/c Maus mit dem BMP-7-Antigen mittels Hybridomtechnik und Grenzverdünnung monoklonale Antikörper generiert. Diese Antikörper sind in der Lage, rekombinantes BMP-7 spezifisch zu erkennen, sowohl bei immunologischen Nachweisverfahren, die Antigen in Proteinlösungen auffinden, wie ELISA und Westernblot, als auch bei denen, die das Antigen an oder innerhalb zellulärer Strukturen binden, also in Immunhistochemie und Immunfluoreszenz. Somit reagiert der monoklonale Antikörper sowohl mit nativem rekombinanten BMP-7 im ELISA als auch mit denaturiertem rekombinanten BMP-7 im Westernblot. Da das in den eukaryontischen HEK-293-Zellen exprimierte BMP-7 wahrscheinlich in korrekt gefalteter und dimerisierter Form vorliegt, ist der monoklonale Antikörper A9/A3 auch in der Lage, natives, eukaryontisches BMP-7 zu erkennen. Der monoklonale Antikörper A9/A3 gehört der Subklasse IgG-2a an. Der Nachweisbereich für rhBMP-7 liegt zwischen 1 ng/ml und 125 ng/ml Antigen, für Fusionsprotein BMP-7/GST zwischen 19,5 ng/ml und 2,5 µg/ml Antigen, jeweils bei einer Erstantikörperkonzentration von 5 µg/ml.

Sowohl Antigen als auch Antikörper bieten diverse Anwendungsmöglichkeiten in der Erforschung der Funktion von BMP-7, als diagnostisches Werkzeug oder bei der Entwicklung und Etablierung experimenteller Therapieformen bei Knorpel- und Knochendefekten, aber auch pathologischen Prozessen außerhalb des Skelettsystems.