

Zusammenfassung

Eine B-Zelle produziert Antikörper von nur einer bestimmten Spezifität. Da verschiedene B-Zellen verschiedene Antikörper produzieren, ermöglicht die hohe Anzahl von B-Zellen eine immense Antikörpervielfalt. Diese Vielfalt wird durch zwei genetische Mechanismen gewährleistet: zum Einen vor Antigenkontakt, durch zufälliges und unpräzises Zusammenfügen von Gensegmenten. Zum Anderen kann nach Antigenkontakt durch somatische Hypermutation (SHM) und Genkonversion die Antikörpervielfalt hinsichtlich der Spezifität erhöht werden, und durch Umschalten der Immunglobulinklasse (class switch recombination, CSR) kann der konstante Teil des Antikörpers ausgewechselt werden. Für die genannten Mechanismen ist das Enzym AID (activation-induced cytidine deaminase) notwendig, welches ausschliesslich in aktivierten B-Zellen exprimiert wird.

Die Zelllinie WEHI-231 wird als Repräsentant einer unreifen B-Zelle angesehen. Sie sollte daher kein AID exprimieren und damit auch weder SHM noch CSR aufweisen. In der vorliegenden Arbeit wurden jedoch AID-exprimierende WEHI-231 Varianten gefunden: Obwohl AID vorhanden ist und auch die anderen in CSR und SHM involvierten Faktoren in den WEHI-231 Varianten unverändert exprimiert werden, konnte kein CSR und nur im geringen Maße SHM nachgewiesen werden. Eine Ausnahme ist ein Zellklon, der durch Akkumulation von Mutationen in der leichten Kette nur wenig IgM an der Zelloberfläche vorweist. Ein möglicher Hinweis auf fehlerhafte AID-Aktivität ist die Rekombination zwischen den Immunglobulin-Allelen, die in WEHI-231 vorgefunden wurde. Anstelle des klassischen AID-Proteins mit 24 kD Molekulargewicht wurde in der ursprünglichen WEHI-231-Linie ein Protein gefunden, das mit dem AID-Antikörper reagiert, aber nur 18 kD Molekulargewicht hat. Aufgrund dieser Ergebnisse und der Tatsache, dass auch IgD exprimiert wird, wurde WEHI-231 als reife B-Zelllinie und die WEHI-231-Variante als aktivierte B-Zelllinie reklassifiziert.

Um weitere Faktoren für SHM und CSR zu finden, wurde SHM in der WEHI-231-Variante mittels retroviraler Integration induziert und als potentieller Kandidat das Chaperon Tid-1 gefunden. Als ein weiterer AID-Interaktionspartner wurde der chromatin-modulierende Faktor Supt6h untersucht, welcher zuvor als potentieller AID-Interaktionspartner in einem yeast two-hybrid test identifiziert wurde. Supt6h bewirkt das Entfernen und späteres Wiedereinfügen von Histonen während der Transkription der RNA Polymerase II. Da die AID-induzierte Mutationsrate von der Transkriptionsrate abhängt, wurde unter der Annahme, dass Supt6h ein vielversprechender Kandidat ist, Interaktion mit AID verifiziert.