

### 3 Aufgabenstellung

Ziel der vorliegenden Untersuchungen war es, herauszufinden, wie T-Zellen durch die Expression eines zweiten TCR beeinflusst werden. Als Modell für Dual-TCR-T-Zellen dienten T-Lymphozyten, die aus einem geeigneten Dtg Mausmodell zu isolieren waren. Es sollte analysiert werden, ob bispezifische  $T_E$  nach adoptivem Transfer den jeweils nicht aktivierten TCR nutzen können. Um diese Frage zu beantworten, wurden die Dual-TCR-T-Zellen in Mäuse transferiert, die es möglich machten, die Effektorfunktionen beider TCR getrennt voneinander untersuchen zu können.

Im Einzelnen ergaben sich folgende Zielstellungen:

- Es sollte analysiert werden, ob die aus der Verpaarung zweier TCR-transgener Mausstämme resultierenden Dtg Mäuse T-Zellen enthalten, die simultan beide TCR exprimieren. Als Modelle dienten OT-I und P14 TCR-transgene  $Rag1^{-/-}$  Mäuse mit C57Bl/6 genetischem Hintergrund, die Ovalbuminpeptid- (ova257) bzw. LCMV Glykoprotein-Peptid- (gp33) spezifische CD8 T-Zellen enthalten. Es war herauszufinden, welchen Phänotyp die aus der Kreuzung der Mausstämme OT-I und P14 hervorgehenden Dtg-T-Zellen haben. Weiterhin war die Funktionalität dieser Dtg-T-Zellen *in vitro* zu untersuchen.
- Zu prüfen war, ob die TCR-Ketten nicht verwandter TCR paaren können und welchen Einfluss dies auf die Funktionalität der hybriden TCR hat. Hierzu sollten P14- und OT-I- (□□) transgene Mäuse untereinander verpaart und die dual-transgenen T-Zellen *in vitro* analysiert werden. Zum anderen sollten OT-I T-Zellen mit den P14 TCR-Ketten (□, □ oder □/□) transduziert und *in vitro* analysiert werden. Um die hierzu notwendigen retroviralen Zellkulturüberstände zu generieren, sollten die P14 TCR-Gene einzeln in retrovirale Vektoren kloniert und Verpackungszelllinien mit diesen Vektoren transfiziert werden.
- In C57Bl/6 bzw. T-Zell-defizienten  $Rag1^{-/-}$  Mäusen war zu untersuchen, ob Dual-TCR-T-Zellen nach Aktivierung über nur einen TCR das Wachstum antigen-exprimierender B16-Tumorzellen über beide TCR unterdrücken können.
- In einem Autoimmunmodell war festzustellen, ob die Unterdrückung des Tumorwachstums durch Dual-TCR-T-Zellen nach Aktivierung über den tumorspezifischen TCR von Autoimmunität, ausgelöst durch den zweiten, nicht

aktivierten TCR, begleitet ist. Als Autoimmunmodell dienten RIP-mOva Mäuse, die Ovalbumin (Ova) als Autoantigen exprimieren, das von den T-Zellen dieser Mäuse toleriert wird. Um den Effekt der Expressionshöhe des Autoantigens zu untersuchen, wurden RIP-Ova<sup>lo</sup> Mäuse, die im Vergleich zu RIP-mOva Mäusen geringe Mengen Ova als Autoantigen exprimieren, das von den T-Zellen dieser Mäuse ignoriert wird, verwendet.