

## **6. Zusammenfassung**

In der vorliegenden Arbeit sollten dendritische Zellen (DC) aus der Haut von Pferden isoliert und aus Monozyten differenziert und charakterisiert werden. Zu diesem Zweck war es zunächst notwendig, die eq.Zytokine, Granulozyten-Makrophagen Kolonie-stimulierender Faktor (GM-CSF), Interleukin 4 (IL-4) und Interferon (IFN ) herzustellen.

Eq.GM-CSF wurde zunächst mit Hilfe von Consensusprimern, die aus anderen Spezies abgeleitet wurden, amplifiziert und hergestellt. Nach Durchführung des RACE-Verfahrens konnte eine Punktmutation (Deletion) im Bereich des 3´Primers erkannt werden, die dazu führte, daß die Proteinsequenz 8 Aminosäuren länger ist als bei anderen bekannten Spezies. Bei eq.IL-4 stellte sich heraus, daß die veröffentlichten Sequenzinformationen nicht korrekt waren, da sie Deletionen enthielten. Lediglich die Sequenzinformationen zu eq.IFN konnten bis auf eine Punktmutation bestätigt werden. Um aktive rekombinante Proteine herzustellen, wurden pro- und eukaryotische Expressionssysteme verwendet. Im bakteriellen System konnte für alle Zytokine eine Überexpression gezeigt werden. Sie zeigten jedoch aufgrund des gewählten Expressionssystemes keine biologische Aktivität. In mammalia Zellen exprimierte Zytokine waren bioaktiv.

Langerhans Zellen (LC) konnten aus der Epidermis isoliert und morphologisch untersucht werden. Die Ausbeute war jedoch sehr gering. Die beim Pferd isolierten peripheren Blutmonozyten (PBM) wurden mit rekombinanten Zytokinen differenziert. Diese monozytären Zellen wurden morphologisch und funktionell charakterisiert. Mit eq.IFN stimulierte Monozyten zeigten Charakteristika von Makrophagen (große adhärente Zellen mit hochregulierter MHC II Expression). In licht- und elektronenmikroskopischen Untersuchungen sowie Analysen der Oberflächenproteine im Durchflußzytometer zeigten die mit eq.GM-CSF und eq.IL-4 stimulierten Monozyten Ähnlichkeit zu den humanen MoDC (Schleierzellen mit Ausläufern mit hochregulierter MHC II und CD86 Expression). Tests in der gemischten Leukozytenreaktion zeigten, daß die MoDC Stimulationskapazität für T Zellen besaßen.