

Zusammenfassung

Die Entwicklung von Antikörpern gegen zellspezifische Oberflächenmarker ermöglichen die selektive Anwendung von therapeutisch wirksamen Effektoren, die an Antikörper gekoppelt an ihren Wirkort transportiert werden können. Entscheidend für den therapeutischen Effekt ist neben der Wahl des Effektors die Art und Spezifität der Zielstruktur. Solche neuen und spezifischen Zielmoleküle sind daher von hohem medizinischem Wert. Phage Display ist eine effektive und etablierte Methode zur Selektion von Antikörpern aus scFv-Phagenbibliotheken gegen Proteine. Die Suche nach Antikörpern gegen unbekannte Antigene wie zell- oder gewebespezifischen Markern erfordert alternative Selektionsstrategien auf komplexen Antigenquellen. Für die Entwicklung anti-angiogener Therapieansätze müssen z. B. entsprechende Zielstrukturen auf Endothelzellen gefunden werden.

In dieser Arbeit wurde eine Phage Display Methode zur Isolierung von hochspezifischen Antikörpern gegen unbekannte Antigene auf primären Endothelzellen etabliert. Mit dieser Oberflächenselektion konnten scFv-Phagen isoliert werden, die hochspezifisch für Endothelzellen sind. Die Zellspezifität dieser Phagenantikörper konnte in ELISA-Experimenten bestimmt und durch immunhistochemische Färbungen von Blutgefäßen auf verschiedenen Gewebeschnitten aus gesundem und Tumorgewebe bestätigt werden. Die Anwendung von Antikörpern in Immuntoxinen oder gentherapeutischen Ansätzen ist von einem zielgerichteten Transport in die Zelle abhängig. Bis heute sind erfolgreiche Antikörper Phage Display Strategien für die Selektion internalisierender scFv-Phagen hauptsächlich auf Zellen mit einem überexprimierten Rezeptor wie dem EGF-Rezeptor auf Tumorzell-Linien oder transfizierten Zellen beschrieben. Im Rahmen dieser Arbeit wurden diese Selektionsstrategien erweitert, und die Isolierung von internalisierenden scFv-Phagen auf primäre Endothelzellen übertragen. Dabei zeigte ein Vergleich von zwei verschiedenen Internalisierungsselektionen, dass eine multivalente Präsentation der Antikörperfragmente notwendig ist, um internalisierende scFv-Phagen zu isolieren. Mit einer modifizierten scFv-Phagenbibliothek, die eine multivalente Präsentation der scFv-Fragmente auf der Phagenoberfläche erlaubte, konnten drei verschiedene scFv-Phagen isoliert werden, für die eine Internalisierung mit immunfluoreszenzmikroskopischen Experimenten nachgewiesen wurde.

Die in dieser Dissertation etablierten Protokolle können als Basis dienen, um Zellselektionen auf oberflächenspezifische oder internalisierende Antigene in Zukunft kontrollierter durchzuführen und weiter auszuarbeiten. Außerdem kann die erarbeitete Methodik bestehende Verfahren zur Antigenidentifizierung mittels Phage Display Selektionen ergänzen. Die auf diesem Wege zugänglichen Antigenstrukturen kommen möglicherweise als neue therapeutische oder diagnostische Marker in Frage.