

Einleitung

Die Herstellung monoklonaler Antikörper stellt ein Meilenstein in der Immunologie dar. Wenn der Mensch mit einem körperfremden Stoff konfrontiert wird z. B. einem Bakterium, Virus oder Protein (werden als Antigene bezeichnet), produzieren spezialisierte Zellen des Immunsystems (Milzzellen, B-Zellen) gegen diese Eindringlinge Abwehrstoffe, die Antikörper.

Als Antwort auf das Eindringen eines Bakteriums werden viele unterschiedliche B-Zellen zum Wachstum angeregt, die jeweils unterschiedliche Antikörper produzieren. Diese unterschiedlichen Antikörper greifen an verschiedenen Stellen der Bakterienzelle an. Die resultierende Mischung von Antikörpern, die als Reaktion auf ein Antigen gebildet werden, nennt man polykonal (polyklonales Antiserum). Polykonal deshalb, weil die Antikörper von verschiedenen B-Zellen gebildet werden und unterschiedliche Strukturen aufweisen.

Man hat einen Weg gefunden, ganz gezielt eine Sorte von Antikörpern zu gewinnen, die monoklonalen Antikörper. Das funktioniert nicht mehr allein in vivo, also im Körper eines Versuchstieres, sondern auch in vitro, im Reagenzglas. Der entscheidende Trick besteht darin, die anfälligen B-Zellen robuster zu machen, so dass sie auch in Kultur überleben.

Herstellung monoklonaler Antikörper

1. Immunisierung

Das aufgereinigte Antigen wird einem Versuchstier (z. B. Maus) intramuskulär gespritzt. Darauf bildet die Maus verschiedene Antikörper gegen die Oberflächen (Epitope; a, b, c) des Antigens. Die Produktion der spezifischen Antikörper in der Maus wird von den B-Zellen übernommen, jede B-Zelle bildet einen Satz von Antikörpern, welche alle gegen dasselbe Epitop des Antigens gerichtet sind (also monoklonal). Nach weiteren Injektionen ca. alle 2 Wochen, werden der Maus die B-Zellen entfernt oder das Blut entnommen (Gewinnung von polyklonalen Antikörpern).

2. Fusionierung

Die erhaltenen B-Zellen können, auch wenn sie in Kulturen gehalten werden, maximal 7-8 Tage überleben. Daher werden sie mit Tumorzellen (Krebs-, Myelomazellen) fusioniert. Die Myelomazellen haben die Eigenschaft, dass sie sich ewig teilen, während die B-Zellen Antikörper produzieren. Die Fusionierung wird mit Hilfe von PEG (Polyethylenglykol) durchgeführt. Die erhaltenen fusionierten Zellen werden Hybridomazellen ("hybrid" = "gemischt") genannt. Sie besitzen beide Eigenschaften, d. h. sie produzieren Antikörper und können sich unendlich teilen.

3. Primärkultur (HAT-Medium)

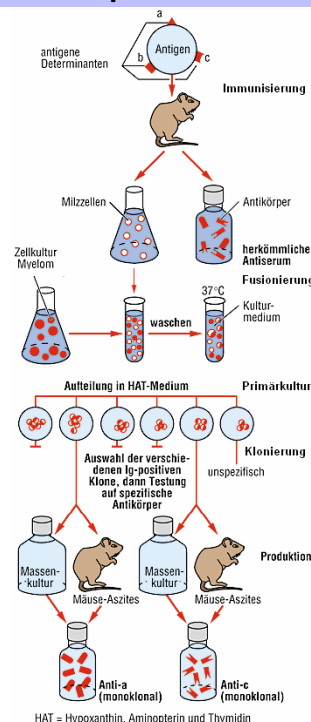
Nach der Fusionierung sind eine Vielzahl von Zellen entstanden. Zum Teil die Hybridomazellen, welche die gesuchten Antikörper gegen das Antigen bilden, aber auch nicht fusionierte B- oder Myelomazellen (Hybride aus zwei B-Zellen oder Hybridomazellen) welche Antikörper gegen andere Antigene bilden. Mit Hilfe des HAT-Mediums (ein spezielles Medium in welchem nur die fusionierten Hybridomazellen überleben können) erfolgt die Selektion.

4. Klonierung

Die von den unterschiedlichen Hybridomazellen produzierten Antikörper werden auf ihre Eigenschaften hin untersucht. Schließlich wird diejenige Hybridomazelle herausgesucht, die Antikörper mit genau der Eigenschaft produziert, die man sucht. Durch Zellteilung werden aus dieser Hybridomazelle, der Ursprungszelle, genetisch identische Zellen produziert. Man nennt diesen Vorgang auch klonen. Jeder dieser Zellklone kann den gesuchten monoklonalen Antikörper produzieren. Die Zellklone können eingefroren werden.

5. Produktion von mAk

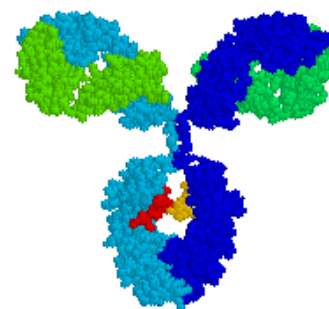
Bei Bedarf kann ein Zellklon aufgetaut und in eine Nährlösung eingebracht werden. Daraufhin wird die Produktion der monoklonalen Antikörper angeregt. Ein Zellklon kann aber auch in den Körper eines Tieres eingebracht werden, der dann die spezifischen monoklonalen Antikörper produziert (wird nur noch selten gemacht, da zum Teil verboten).



Ablauf der mAk-Gewinnung

Eigenschaften / Bedeutung

Monoklonale Antikörper haben verschieden Vorteile gegenüber polyklonalen. Dank den besonderen Eigenschaften der Hybridomazelllinien (sie können eingefroren, aufgetaut und in Kultur gehalten werden) kann auf eine gleich bleibende Charge von Antikörpern zurückgegriffen werden. Dies ist bei den polyklonalen Antikörpern nicht möglich, da nach dem Verbrauch einer Charge wieder eine Maus immunisiert werden muss. Diese bildet einen nicht identischen Satz Antikörper gegen das gleiche Antigen. Bei quantitativen Methoden sind identische Chargen von Vorteil, da diese immer gleiche Resultate liefern.



Beispiel eines Antikörpers. An den oberen Enden der Y-Form des Antikörpers befinden sich die Bindungsstellen, die komplementär zum Antigen sind. Legende: leichte Ketten (grün), schwere Ketten (blau).

In der Diagnostik und Forschung spielen monoklonale Antikörper eine große Rolle, da sie mit hoher Spezifität verschiedenste Moleküle binden können. Die Bindung der Antikörper lässt sich dann mit unterschiedlichen Techniken nachweisen. Diese Antigen-Antikörper Reaktion bildet die Grundlage für zahlreiche diagnostische Verfahren (z.B. ELISA, FACS, Magnetic Bead Assays).