
Inhaltsverzeichnis

1 Was sind Antikörper und wie funktionieren sie?	1
1.1 Eine kurze Geschichte der Antikörper	1
1.2 Wofür braucht der Mensch Antikörper?	4
1.2.1 Antikörper sind Teil des Immunsystems	4
1.3 Wie sind Antikörper aufgebaut und wie entstehen sie?	4
1.3.1 Wie sieht die Struktur von Antikörpern aus?	4
1.3.2 Die variablen Domänen vermitteln die Antigenbindung	6
1.3.3 Die konstanten Domänen vermitteln Effektorfunktionen	16
1.4 Wie entsteht die Antikörperdiversität?	17
1.4.1 Die Antikörpervielfalt entsteht durch die zufällige Kombination von Peptidbausteinen	19
1.4.2 Antikörper-Gene werden aus Gensegmenten zusammengesetzt	20
1.4.3 Die kombinatorische Diversität entsteht durch VDJ-Rekombination und durch die Kombination von leichter und schwerer Kette	21
1.4.4 Funktionale Diversität: Erzeugung neuer Gensequenzen in jeder B-Zelle	21
1.5 Wie entsteht eine spezifische Immunantwort aus dieser Antikörper-Vielfalt?	22
1.5.1 Klonale Deletion, Selektion und Expansion	22
1.5.2 Affinitätsreifung durch somatische Hypermutationen	24
2 Wie werden rekombinante Antikörper generiert und charakterisiert?	25
2.1 Was sind rekombinante Antikörper?	25
2.2 Warum rekombinante Antikörper?	26
2.3 Herstellung rekombinanter Antikörper aus Hybridomen	27
2.3.1 Hybridom-Zelllinien zur Produktion monoklonaler Antikörper sind genetisch heterogen	29
2.4 B-Zell-Klonierung aus Patienten und Einzellzell-PCR	31
2.5 Transgene Tiere mit humanem Genrepertoire	32

2.6	In vitro-Selektionssysteme: Imitation des Immunsystems im Reagenzglas	33
2.6.1	Die Antikörperbildung des humoralen Immunsystems kann in Bakterien imitiert werden	33
2.6.2	Die Oberflächenexpression von Antikörpergenen ermöglicht eine klonale Selektion in vitro	42
2.6.3	Alternative in vitro-Selektionssysteme	53
2.6.4	Ein effektives in vitro-Selektionssystem ermöglicht die Imitation der somatischen Hypermutation in Bakterien	58
2.7	Analyse von Antikörpern	58
2.7.1	Wie wird Affinität gemessen?	58
2.7.2	Spezifität	63
2.7.3	Wie wird die Stabilität bestimmt?	82
3	Antikörper-Engineering: Maßgeschneiderte Reagenzien für jede Anwendung	85
3.1	Welche weiteren rekombinanten Antikörperfragmente und Formate gibt es?	85
3.2	Antikörperhumanisierung	88
3.2.1	Maus-Mensch-Chimären	88
3.2.2	CDR-grafting	91
3.2.3	Chain Shuffling zur Humanisierung von Antikörpern	92
3.2.4	Chain Shuffling auf Proteinebene	94
3.2.5	Keimbahn-Humanisierung (Germlinization, super-humanization)	95
3.3	Affinitätsreifung in vitro	96
3.3.1	Error prone PCR	96
3.3.2	Mutatorstämme	98
3.3.3	Chain Shuffling zur Affinitätsreifung von Antikörpern	99
3.3.4	DNA-Shuffling	100
3.4	Stabilitätsreifung in vitro	102
3.4.1	PCR-Mutagenese/DNA-Shuffling zur Stabilitätsreifung	103
3.4.2	Fv-Fragmente können durch interne Disulfidbrücken stabilisiert werden	106
3.5	Fc-Engineering	108
3.5.1	Glycoengineering	109
3.5.2	Fc-Rezeptor-Bindung	111
3.5.3	Serumhalbwertszeit-Engineering	115
3.6	Antikörper mit erweiterter Funktion	118
3.6.1	Bispezifische Antikörper	122
3.6.2	Immunkonjugate	133
3.7	Antikörperfusionsproteine	137

3.7.1	Antikörpercytokinfusionen	138
3.7.2	Immuntoxine	139
3.7.3	Immun-RNasen	142
3.7.4	ADEPT: Ungiftige Substanzen können am Tumorort in Zellgifte umgewandelt werden.	144
4	Wie werden rekombinante Antikörper produziert und aufgereinigt?	147
4.1	Auswahl des Expressionssystems	147
4.2	Prokaryotische Produktionssysteme	149
4.2.1	Produktion in <i>E. coli</i>	149
4.2.2	Produktion in Gram-positiven Bakterien	154
4.3	Eukaryotische Produktionssysteme	155
4.3.1	Die Zellen des Immunsystems sind die natürlichen Produktionsstätten von Antikörpern.	155
4.3.2	Chinese Hamster Ovary-(CHO-)Zellen sind der Standard für die Produktion therapeutischer Antikörper.	156
4.3.3	Produktion in HEK293-Zellen	160
4.3.4	Produktion in Pilzen	161
4.3.5	Produktion in Protozoa	162
4.3.6	Produktion in Insektenzellen	163
4.3.7	Produktion in transgenen Pflanzen	165
4.3.8	Produktion in transgenen Tieren	166
4.3.9	In vitro-Produktionssysteme	166
4.4	Reinigung von Antikörpern	167
4.4.1	Physikalische Trennmethode stehen am Anfang jeder Antikörperreinigung.	169
4.4.2	Affinitätschromatographische Reinigung mit Hilfe von Antikörperbindern	169
4.4.3	Affinitätschromatographische Reinigung mit Hilfe eines heterologen Fusionsanteils.	177
4.4.4	Entfernung von bakteriellem Endotoxin aus Antikörperpräparationen	185
4.4.5	Lagerung von aufgereinigten Antikörpern	186
5	Anwendungsgebiete für rekombinante Antikörper	189
5.1	Bessere Werkzeuge für Forschung und Diagnostik	189
5.1.1	Antikörper sind die Basis für viele klassische Assays	189
5.1.2	Besser definierte Antikörper für Forschung und Diagnostik	190
5.2	Katalytische Antikörper: Antikörper können die Funktion von Enzymen übernehmen.	192
5.3	Neue Ansätze, die nur mit rekombinanten Antikörpern möglich sind.	196
5.3.1	In vitro-Antikörpererzeugung vermeidet Tierversuche	196

5.3.2	Einfacher Austausch von Fc-Teilen erweitert die Anwendungsmöglichkeiten	199
5.3.3	Erzeugung aufeinander abgestimmter sandwich pairs.	200
5.3.4	Verkleinerung von Antikörpern für bessere in vivo-Diagnostik	200
5.3.5	Protein-Knock-down mit Intrabodies.	202
5.3.6	Antikörper mit regulierbarer Bindungsstärke	207
5.4	Rekombinante Antikörper für die Therapie	210
5.4.1	Nomenklatur für therapeutische Antikörper (INN)	215
5.4.2	Behandlung von Krebserkrankungen.	218
5.4.3	Behandlung von Autoimmunerkrankungen	222
5.4.4	Bekämpfung von Pathogenen	223
5.4.5	Neutralisierung von Toxinen	224
5.4.6	Weitere therapeutische Anwendungsgebiete	225
5.4.7	Chimeric Antigen-Rezeptoren als neue Therapieform.	226
5.4.8	Therapeutische Antikörper in der Veterinärmedizin	228
5.5	Antikörperentwicklung und Antikörpertherapie in der Zukunft	229
Literatur.		231
Stichwortverzeichnis.		283