

---

<b>1.1.</b>	<b>Zusammenfassung</b>	<b>1</b>
<b>1.2.</b>	<b>Summary</b>	<b>2</b>
<b>2.</b>	<b>Einleitung</b>	<b>3</b>
2.1.	Morbus Hodgkin	3
2.1.1.	Historische Entwicklung	3
2.1.2.	Sternberg-Reed-Zelle	3
2.1.3.	Epidemiologie	4
2.1.4.	Pathogenese	5
2.1.5.	Therapie	5
2.2.	Immuntherapie	7
2.2.1	Allgemeines	7
2.2.2.	Aktive Immuntherapie	8
2.2.3.	Passive Immuntherapie	8
2.2.3.1.	Monoklonale Antikörper	8
2.2.3.2.	Monoklonale Antikörper in der Morbus-Hodgkin-Therapie	10
2.2.4.	Tumor-Nekrose-Faktor (TNF)	10
2.2.5.	CD 30	12
2.3.	Thema der Arbeit	13
<b>3.</b>	<b>Material und Methoden</b>	<b>14</b>
3.1.	Chemikalien, Verbrauchsmaterialien und Kits	14
3.2.	Puffer und Lösungen	16
3.3.	Verwendete PCR-Primer	18
3.4.	Polymerasekettenreaktion (PCR)	19
3.5.	Extraktion von DNA-Fragmenten aus Agarosegelen	20
3.6.	DNA-Ligation	20
3.7.	Transformation von Plasmid-DNA in kompetente Bakterien	20
3.8.	Anfertigung eines Glycerolstocks	21
3.9.	Plasmid-Präparationen	21
3.9.1	Plasmid-Mini-Boiling Präp	21

---

3.9.2	Plasmid-Mini-Präp nach Quiagen	22
3.10.	DNA-Sequenzierung nach Sanger	23
3.11.	Bearbeitung der Sequenzen	24
3.12.	Auftrennung von Proteinen in der SDS-PAGE	24
3.13.	Western-Blot	25
3.14.	Immunologischer Nachweis von Proteinen	25
3.15.	Zellkultur	25
3.16.	Transfektion eukaryontischer Zellen	26
3.17.	Transiente Genexpression mit HEK293-EBNA-Zellen	26
3.18.	Durchflusszytometrie (FACScan®)	27
3.19.	Indirekte Immunfluoreszenz im FACS	28
4.	<b>Ergebnisse</b>	<b>29</b>
4.1.	Herstellung des CH2/CH3-trunkierten dimerisierten anti-CD30-IgG1-TNF-Fusionsproteins	29
4.2.	Charakterisierung des Fusionsproteins und seiner Bindungseigenschaften	31
4.2.1.	Bindung des Konstruktes	31
4.2.2.	Integrität des Konstruktes	32
4.3.	Funktionalität des Konstruktes	32
5.	<b>Diskussion</b>	<b>34</b>
5.1.	Antikörpergestützte Therapien des M. Hodgkin	34
5.2.	Transiente Proteinproduktion in 293 HEK-Zellen	35
5.3.	Das chimäre Immunzytokin	36
5.3.1.	Der IgG1-hinge Anteil des Immunzytokins	36
5.3.1.1	Affinität	37
5.3.2.	Der TNF- $\alpha$ -Anteil des Immunzytokins	37
5.3.2.1	Dimere Struktur, Funktionalität	37
5.3.2.2	Internalisation und Freisetzung von Sauerstoffradikalen	39
5.3.2.3	Aktivität eines membranständigen Immunzytokins über TNF-R2	39

---

<b>5.3.2.4</b>	<b>In-vivo-Toxizität eines TNF-Immunzytokins</b>	<b>40</b>
<b>5.3.2.5</b>	<b>Antitumorwirksamkeit</b>	<b>41</b>
<b>5.4</b>	<b>Ausblick</b>	<b>42</b>
<b>6.</b>	<b>Literaturverzeichnis</b>	<b>43</b>
<b>7.</b>	<b>Danksagung</b>	<b>55</b>
<b>8.</b>	<b>Lebenslauf</b>	<b>56</b>