
1.1.	<u>Zusammenfassung</u>	1
1.2.	<u>Summary</u>	3
2.	<u>Einleitung</u>	4
2.1.	Epidemiologie der Krebserkrankungen	4
2.2.	Tumorimmuntherapie als Therapieoption	4
2.2.1.	Aktive Ansätze - Tumorstimmulierung	5
2.2.2.	Passive Ansätze - monoklonale Antikörper	6
2.3.	Die Herstellung monoklonaler Antikörper	7
2.4.	Die Bedeutung monoklonaler Antikörper	8
2.4.1.	Unkonjugierte monoklonale Antikörper	8
2.4.2.	Konjugierte monoklonale Antikörper	10
2.5.	Struktur und Funktion von Antikörpern	10
2.5.1.	Der IgG-Antikörper	11
2.5.2.	Der IgM-Antikörper	12
2.6.	Das Komplementsystem	13
2.7.	Das CD33-Antigen	15
2.8.	Ziel der Arbeit	16
3.	<u>Material und Methoden</u>	17
3.1.	Material	17
3.1.1.	Geräte	17
3.1.2.	Chemikalien, Verbrauchsmaterialien, Puffer	17
3.1.3.	Zellen	19
3.2.	Methoden	19
3.2.1.	Midi-Plasmid-Prep (Quiagen)	19
3.2.2.	Die Polymerasekettenreaktion (PCR)	20
3.2.3.	Sequenzierung	21
3.2.3.1.	Sequenzreaktion	21
3.2.3.2.	Bearbeitung der Sequenzen	22
3.2.4.	Transiente Genexpression mit HEK 293-EBNA-Zellen	22
3.2.5.	SDS-Polyacrylamidgelelektrophorese	23
3.2.6.	Western Blot	25
3.2.7.	IgM-Purification (amersham pharmacia biotech)	26
3.2.8.	Zytotoxizitäts-Assay	27

3.2.9.	Immunfluoreszenz und Durchflusszytometrie (FACScan®)	28
4.	<u>Ergebnisse</u>	30
4.1.	Herstellung, Aufreinigung und Nachweis eines CD33-spezifischen IgM-Antikörpers	30
4.1.1.	Herstellung und Aufreinigung des Antikörpers	30
4.1.2.	Nachweis des Antikörpers im Western Blot	31
4.2.	Nachweis eines CD33-spezifischen IgG-Antikörpers	31
4.3.	Charakterisierung der Antikörper und ihrer Bindungseigenschaften	33
4.3.1.	Der CD33-spezifische IgM-Antikörper	33
4.3.2.	Der CD33-spezifische IgG-Antikörper	34
4.3.3.	Vergleich des IgM- und des IgG-Antikörpers	35
4.4.	Funktionelle Testung der Antikörper im Zytotoxizitätsassay	36
4.4.1.	Komplementvermittelte Zytolyse des IgG- und IgM-Antikörperperformaten bei gleicher Konzentration	36
4.4.2.	Komplementvermittelte Zytolyse des IgG- und IgM-Antikörperperformaten bei gleicher Molarität	37
5.	<u>Diskussion</u>	40
5.1.	Antikörpergestützte Therapien von Krebserkrankungen	40
5.2.	Komplement vermittelte Zytotoxizität monoklonaler Antikörper an CD33-antigentragenden Zellen	41
5.3.	Transiente Proteinproduktion in 293 HEK (human embryonic Kidney)-Zellen	43
5.4.	Der IgM-Antikörper	44
5.4.1.	Überblick über den IgM-Antikörper in Labor und Klinik	44
5.4.2.	IgM-Antikörper von Tumorpatienten	45
5.4.3.	IgM als Pentamer/Hexamer	45
5.5.	Vergleich beider Antikörper in dieser Arbeit	46
5.5.1.	Affinität der Antikörper an das CD33-Antigen	46
5.5.2.	Aktivierung des Komplementsystems und Lyse der Zellen	47
5.6.	Ausblick	48
6.	<u>Literaturverzeichnis</u>	50
7.	<u>Danksagung</u>	64

8. Lebenslauf

65