

1.1.	Zusammenfassung	1
1.2.	Summary	2
2.	Einleitung	3
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
3.	Material und Methoden	14
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.	Ergebnisse	29
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.	Diskussion	34
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- α -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

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