

Berichtsblatt

1. ISBN oder ISSN keine	2. Berichtsart: Abschlussbericht	
3a. Titel des Berichts: WK BioResponse/Verbundprojekt RHEUMA-CHIP		
3b. Titel der Publikation		
4a. Autoren des Berichts (Name, Vorname(n)): Prof. Dr. Michael Bachmann	5. Abschlussdatum des Vorhabens 31.03.2007	
4b. Autoren der Publikation (Name, Vorname(n))	6. Veröffentlichungsdatum: 30.10.2007	
	7. Form der Publikation: Bericht an BMBF	
8. Durchführende Institution(en) (Name, Adresse) Institut für Immunologie Medizinische Fakultät der TU Dresden Fiedlerstrasse 42 D - 01307 Dresden	9. Ber. Nr. Durchführende Institution: Inst.für Immunologie; Medizinische Fakultät der TU Dresden	
	10. Förderkennzeichen 03WKR02B	
	11a. Seitenzahl Bericht: 17	
	11b. Seitenzahl Publikation	
	12. Literaturangaben	
13. Fördernde Institution (Name, Adresse) Bundesministerium für Bildung und Forschung (BMBF)	14. Tabellen	
	15. Abbildungen	
	16. Zusätzliche Angaben	
17. Vorgelegt bei (Titel, Ort, Datum)		
18. Kurzfassung Zur Entwicklung eines Multiparameter-Assays für die Diagnose von systemischen rheumatoiden Autoimmunerkrankungen wurde ein neuartiges universelles Antigen-Festphase Kopplungssystem basierend auf zwei Peptid-Tags und einem bifunktionellen rekombinanten Antikörper entwickelt. Außerdem wurden zahlreiche putative neue Autoantigene kloniert, exprimiert und schließlich mit dem neuen Tag fusioniert. In ersten Tests konnte sowohl "proof of principle" für das neuartige Kopplungssystem, als auch neue Autoantikörperreaktivitäten in Seren von Autoimmunpatienten identifiziert werden.		
19. Schlagwörter Wachstumskern „BioResponse“, Multiparameterimmundiagnostik, Rheumachip		
20. Verlag Keine Angaben	21. Preis na	

*) Auf das Förderkennzeichen des BMBF soll auch in der Veröffentlichung hingewiesen werden.

Document Control Sheet

1. ISBN or ISSN	2. Type of Report Final report	
3a. Report Title WK BioResponse/RHEUMA-CHIP		
3b. Title of Publication		
4a. Author(s) of the Report (Family Name, First Name(s))	5. End of Project 31.03.2007	6. Publication Date
4b. Author(s) of the Publication (Family Name, First Name(s))	30.10.2007	7. Form of Publication final report
8. Performing Organization(s) (Name, Address) Institute of Immunology Medical Faculty TU TU Dresden Fiedlerstrasse 42 D - 01307 Dresden	9. Originator's Report No.	10. Reference No. 03WKR02B
13. Sponsoring Agency (Name, Address) Bundesministerium für Bildung und Forschung (BMBF)	11a. No. of Pages Report 17	11b. No. of Pages Publication
16. Supplementary Notes	12. No. of References	14. No. of Tables
17. Presented at (Title, Place, Date)	15. No. of Figures	
18. Abstract In order to facilitate the development of multiparameter-assays including for the diagnosis of systemic rheumatoid autoimmune diseases we established a novel universal antigen-coating system which bases on two novel described peptide-epitope tags in combination with a recombinantly expressed bifunctional antibody. In addition, we cloned, expressed and purified a series of putative novel autoantigens to which we fused the novel epitope tag. During our studies we could demonstrate the "proof of principle" for our novel antigen coating technique. Moreover, we could identify novel autoimmune responses in sera of patients suffering from systemic autoimmunity.		
19. Keywords Wachstumskern „BioResponse“, Multiparameterimmundiagnostik, Rheumachip		
20. Publisher	21. Price	

Abschlussbericht 2007 des Wachstumskerns BioResponse

Zuwendungsempfänger: TU Dresden, Institut für Immunologie Prof. Dr. Michael Bachmann	Förderkennzeichen: 03WKR02B
Vorhabensbezeichnung: WK BioResponse/Verbundprojekt RHEUMA-CHIP	
Laufzeit des Vorhabens: 01.04.2004 – 31.03.2007	
Berichtszeitraum: 01.04.2004 – 31.03.2007	

I. Darstellung

1. Aufgabenstellung:

Ziele unseres Teilprojektes waren: (i) die Entwicklung eines neuen universellen Tagging-Systems, (ii) die Identifikation, Klonierung, Expression und Reinigung neuer putativer Autoantigene, sowie (iii) das Tagging der rekombinanten Antigene.

2. Voraussetzungen, unter denen das Vorhaben durchgeführt wurde:

Das Projekt war ein Verbundprojekt im Wachstumskern Bioresponse

3. Planung und Ablauf des Vorhabens:

4. wissenschaftlichem und technischem Stand, an den angeknüpft wurde, insbesondere • Angabe bekannter Konstruktionen, Verfahren und Schutzrechte, die für die Durchführung des Vorhabens benutzt wurden:

Für die Klonierung unserer rekombinanten Moleküle wurden öffentliche Medizinische Datenbanken (Medline, NCBI) verwendet.

5. Zusammenarbeit mit anderen Stellen:

Die Zusammenarbeit konzentrierte sich auf die Kooperationspartner innerhalb des Wachstumskerns.

II. Eingehende Darstellung

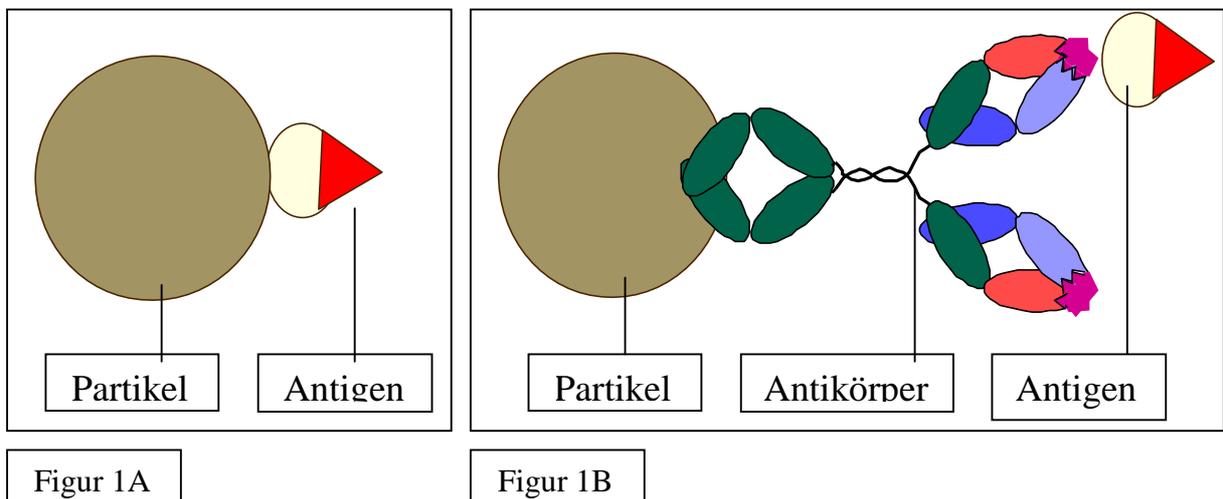
Die Hauptaufgaben unseres Teilprojektes bestanden in:

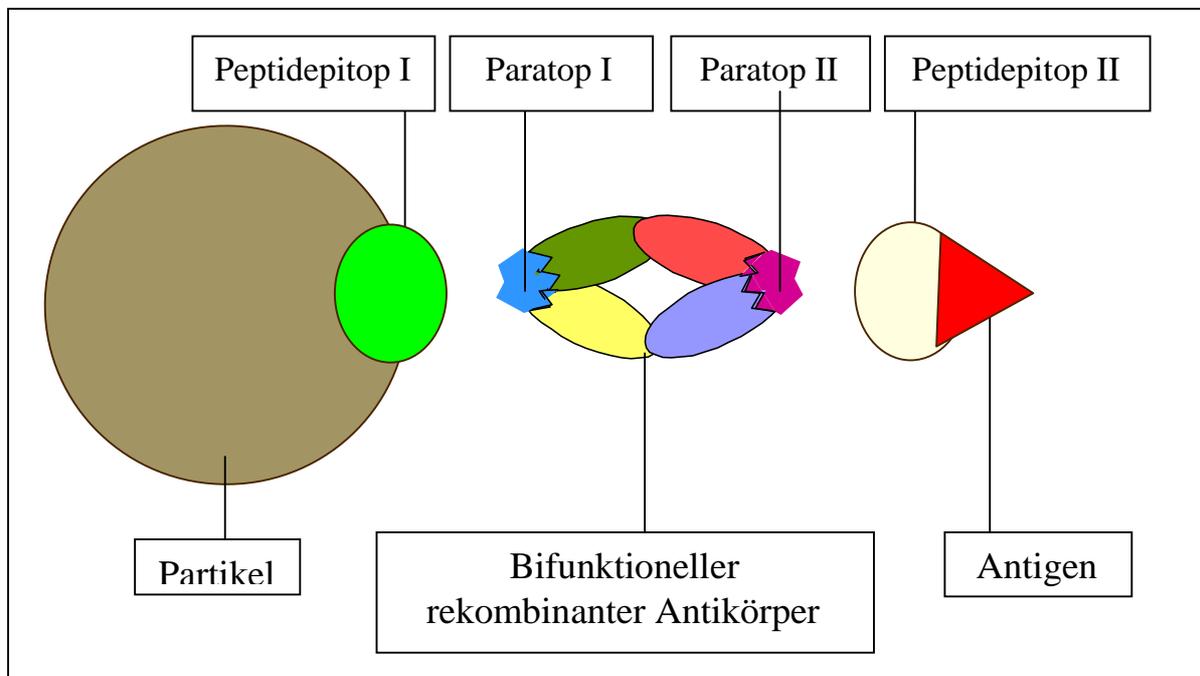
- (i) Entwicklung eines neuen universellen Tagging-Systems
- (ii) Identifikation, Klonierung, Expression und Reinigung neuer putativer Autoantigene
- (iii) Tagging der rekombinanten Antigene

Ursprünglich war geplant gewesen, zunächst das Tagging-System zu entwickeln und danach erst die Antigene zu klonieren. Denn dann hätten die Antigene nur einmal kloniert und exprimiert werden müssen. Davon wurde aber, wie in früheren Berichten begründet, abgewichen, weil ansonsten unser Partner Herr Dr. Roggenbuck erst nach der Entwicklung und Charakterisierung des Tagging-Systems mit der Evaluierung der Antigene hätte beginnen können. Insgesamt hatte diese Umstellung, wie in früheren Zwischenberichten aber bereits ausführlich beschrieben, begründet und vom Projektträger auch akzeptiert, nicht nur die Durchführung, sondern auch die Personalstruktur sowie die Kosten der Verbrauchsmittel beeinflusst.

(i) *Entwicklung eines neuen universellen Tagging-Systems*

Wie schematisch in Figur 1A dargestellt, wird bei einem immunologischen Testsystem normalerweise das nachzuweisende Antigen an eine Festphase (z.B. ELISA Platte, Immunoblot oder Partikel) gekoppelt. Alternativ kann das Antigen auch über einen ersten Antikörper aus einem Totalextrakt gefischt (z.B. Capture ELISA) werden (Figure 1B). Der





Figur 1C

Nachweis erfolgt dann über einen zweiten Antikörper, der ein anderes Epitop erkennen muß, wie der zum Koppeln verwendete erste Antikörper. Eine dritte völlig neue Variante ist in Figur 1C schematisch dargestellt. In diesem Fall wird an die feste Phase ein kurzes Peptid gekoppelt. An dieses Peptidepitop kann ein bifunktionelles rekombinantes Antikörperderivat binden. Da dieser Antikörper zwei verschiedene Paratope enthält und darüber an zwei verschiedene Epitope binden kann, kann man ihn theoretisch zum Koppeln eines jeden beliebigen Antigens an eine Festphase verwenden, an das sich das zweite Peptidepitop binden läßt. Besonders einfach ist dies im Falle von Proteinantigenen, da man das Peptidepitop rekombinant an den N- oder C-Terminus des Antigens klonierungstechnisch fusionieren kann. Die in Figur 1C dargestellte Variante hat den Vorteil, dass man nur einen Typ Festphasepartikel für alle Antigene herstellen muß. Es ist leicht ersichtlich, dass die Kopplung eines kleinen Peptidepitops wesentlich unproblematischer ist als die Kopplung von einem Protein z.B. einem Antikörper. Denn ein kleines lineares Peptid ist wesentlich robuster als ein Protein, dessen Funktion oder Struktur bedingt durch die Kopplungsbedingungen leicht verloren gehen kann. Somit ließe sich mit diesem neuen System die Kopplung von Antigenen wesentlich erleichtern und damit die Herstellung der Antigen-beladenen Partikel wesentlich beschleunigen, da man nicht für jedes zu koppelnde Antigen die hierfür optimalen Bedingungen ermitteln müßte. Alternativ zu dem System in Figur 1C kann auch die weniger komplexe Variante in Figur 1B genutzt werden, vorausgesetzt, dass der Antikörper für eine Kopplung an die Festphase stabil genug ist und die Affinität zu dem Peptidepitop ausreichend ist. Vorversuche hatten gezeigt, dass Antikörper gegen kommerzielle Tags wie z.B. der His-Tag oder Myc-Tag nicht affin genug sind. Deshalb suchten wir nach neuen besser geeigneten Peptid-Tags.