

Zusammenfassung

Dissertation Dipl. troph. Eva Sewekow "Sojabohnenprotein P34: Aufreinigung, Verdauung und epithelialer Transport im enteralen Zellkulturmodell"

Viele Menschen leiden an Nahrungsmittelallergien (Bischoff 2006). Die Allergie auslösenden Proteine haben besondere Eigenschaften, die es ihnen ermöglichen, die Zellen des Immunsystems intakt zu erreichen und allergische Reaktionen auszulösen. Das P34 ist ein solches Protein und das wichtigste Allergen der Sojabohne für den Menschen (Ogawa et al. 1991). In dieser Arbeit wurde es als Beispielantigen verwendet, um zu studieren, wie Antigene die Zellen des Immunsystems erreichen. Es war von Interesse, welche Wirkung P34 auf diese Immunzellen hat, vor allem aber wie es die Verdauung übersteht und zu den Enterozyten gelangt bzw. durch sie transportiert werden. Als Modellzellen wurde die IPEC-J2 Zelllinie polarisierter Epithelzellen aus dem Schwein (Berschneider 1989) verwendet sowie aus dem Blut von Schweinen isolierte PBMCs (*peripheral blood mononuclear cells*) und aus Monozyten hergestellte Dendritische Zellen (MoDCs).

P34 konnte zunächst mit Hilfe der Hydrophoben Interaktionschromatographie erfolgreich mit einer Ein-Stufen-Elution auf der Butyl Sepharose 4 FF Phase aufreingt werden. Das Verfahren konnte zweimal auf größere Säulen übertragen werden. Das Protein konnte nach einem *in vitro* Verdauungsversuch als ganzes Protein und 20 kDa große Bruchstücke nachgewiesen werden. P34-bindende Antikörper wurden im Serum von Schweinen detektiert. Die Endozytose von P34 in die Enterozyten war konzentrations- und zeitabhängig. Das Protein adsorbierte an die Oberfläche der Zellen, was anteilig von der Glykosylierung des Proteins abhängig war. Die *Caveolae/ Lipid Raft*-vermittelte Endozytose konnte mit einer *Raft*-Isolation durch die Dichtegradientenultrazentrifugation nachgewiesen werden und wurde durch eine Behandlung mit Methyl- β -Cyclodextrin, welches das für die *Caveolae*-vermittelte Endozytose wichtige Cholesterol bindet, vermindert. Das P34 erhöhte die epitheliale Bildung der mRNA von proinflammatorischem IL-6, hatte aber keinen Einfluss auf die mRNA-Mengen von IL-8 und TGF- β . Die Vitalität einer PBMC Kultur war durch P34 unbeeinflusst. Antigenpräsentierende Dendritische Zellen endozytierten P34 bis zu einer Konzentration von 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ konzentrationsabhängig.

Es lässt sich schlussfolgern, dass das aufgereinigte Protein P34 wegen seiner Stabilität während der Verdauung, der Glykosylierung und der Größe ein sehr gutes Modelantigen ist, um die Aufnahme und den Transport antigenen Proteine zu Immunzellen zu studieren. Die Tatsache, dass P34 Antikörper in den Seren unterschiedlich gefütterter Schweine gefunden wurde, beweist, dass die verfolgten Hypothesen auch *in vivo* realistisch sind. Dass wiederum keine durch P34 immunmodulierenden Effekte beobachtet wurden, kann bedeuten, dass P34 als Antigen an zu wenige Zellen adressiert war und keine kostimulatorischen Moleküle hat, es ein zu spezifisches Antigen ist und zweitens auch, dass die Interaktion verschiedener Zellen erst Reaktionen hervorrufen würde. Diese wurden hier nicht untersucht. Deshalb würden weitere Schritte in der Untersuchung von P34 und den Zellen des Darmimmunsystems ein Ko-Kulturen-Modell einbeziehen. Außerdem wäre die Untersuchung möglicher zellulärer Rezeptoren interessant.

Bischoff, S.: Food Allergies, *Current Gastroenterology Reports* (2006) 8:374-382

Berschneider, H. M.: Development of normal cultured small intestinal epithelial cell lines which transport Na and Cl, *9th Annual Meeting of the American Gastroenterological Association* (1989)

Ogawa, T., Bando, N., Tsuji, H., Okajima, H., Nishikawa, K., and Sasaoka, K.: Investigation of the IgE-binding proteins in soybeans by immunoblotting with the sera of the soybean-sensitive patients with atopic dermatitis, *J. Nutr. Sci. Vitaminol. (Tokyo)* (1991) 37(6):555-565.