



## Pressemitteilung

20. Dezember 2017

### Weniger Versuchstiere dank sekundärer Nano-Antikörper

#### Max-Planck-Forscher entwickeln Alternative zu den meistgenutzten Antikörpern und ihrer ethisch umstrittenen Produktion in Versuchstieren

Antikörper sind aus biologischer Forschung und medizinischer Diagnostik nicht mehr wegzudenken. Sie herzustellen ist jedoch zeitintensiv, kostspielig und erfordert den Einsatz vieler Tiere. Wissenschaftler am Max-Planck-Institut (MPI) für biophysikalische Chemie in Göttingen haben nun sogenannte sekundäre Nanobodies entwickelt, die die meistgenutzten Antikörper ersetzen und die Anzahl der Tiere in der Antikörper-Produktion drastisch reduzieren können. Das ist möglich, weil sich die Sekundär-Nanobodies in praktisch unbegrenzter Menge in Bakterien herstellen lassen. Außerdem haben die sekundären Nanobodies bei vielen zellbiologischen Methoden Vorteile gegenüber ihren Antikörper-Pendants. (*Journal of Cell Biology*, 20. Dezember 2017)

Als zentraler Teil des Immunsystems schützen Antikörper uns Menschen und andere Wirbeltiere vor Krankheitserregern. Darüber hinaus sind sie unverzichtbare Werkzeuge in der medizinischen Diagnostik, der Therapie und der Grundlagenforschung – zum Beispiel in der Mikroskopie. Wenn Forscher ein bestimmtes Protein in einer Zelle mikroskopisch untersuchen wollen, markieren sie es mit Antikörpern, die gegen das gewünschte Protein gerichtet sind. Haben diese sogenannten *primären* Antikörper an das Zielprotein gebunden, kommen in einem zweiten Schritt *sekundäre* Antikörper zum Einsatz. Diese wiederum binden an die primären Antikörper und können etwa mit einem Fluoreszenzfarbstoff gekoppelt sein, der schließlich unter dem Mikroskop leuchtet und so das Protein sichtbar macht.

Die Produktion der sehr vielfältigen Primär-Antikörper erfolgt traditionell in kleinen Säugern wie Mäusen oder Kaninchen: Die Tiere werden zunächst mit einem gereinigten Protein per Spritze immunisiert – vergleichbar mit einer Schutzimpfung beim Menschen. Daraufhin bildet das Immunsystem der Tiere Antikörper gegen das Protein. Die Antikörper werden schließlich aus dem Blut der Tiere gesammelt und aufbereitet. Da tausende Labors weltweit Antikörper nutzen und fast alle diese Anwendungen sekundäre Antikörper erfordern, ist der Bedarf für letztere enorm. Deshalb sind für die Sekundär-Antikörper-Produktion nicht nur viele, sondern auch große Tiere wie Esel, Ziegen oder Schafe nötig, was ein ethisches Problem darstellt.

## Sekundäre Nanobodies lassen sich in Bakterien herstellen

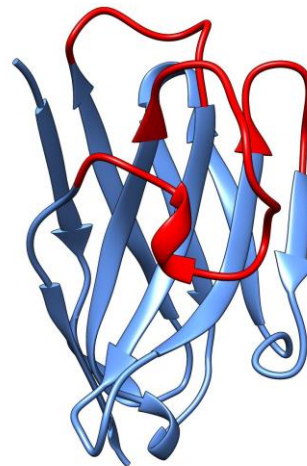
Forscher am MPI für biophysikalische Chemie in Göttingen haben jetzt eine nachhaltige Alternative vorgestellt, die Sekundär-Antikörper gegen primäre Antikörper aus Mäusen und Kaninchen komplett ersetzen und somit die Zahl benötigter Tiere für die Antikörper-Herstellung drastisch reduzieren kann – dank spezieller Nanobodies. Nanobodies sind Fragmente besonders einfach aufgebaute Mini-Antikörper aus Kamelen und ihnen verwandten Arten wie Alpakas. „Wir haben Sekundär-Nanobodies entwickelt, die sich – ähnlich wie Bier in einem Fermenter – mikrobiologisch in beliebiger Menge produzieren lassen“, erklärt Dirk Görlich, Direktor am MPI für biophysikalische Chemie und Leiter des Projekts. Mit herkömmlichen Antikörpern ist diese Herstellungsart aufgrund ihrer komplexen Struktur nicht möglich.



Die Alpakas des MPI für biophysikalische Chemie können sich auf einer großen Weide frei bewegen, sehr zur Freude von vorbeikommenden Spaziergängern und dem angrenzenden Kindergarten. Nachdem die Göttinger Forscher zwei der Alpakas sehr schonend immunisiert hatten, konnten sie die Baupläne für die sekundären Nanobodies aus einer kleinen Blutprobe der Tiere gewinnen. Mit den Bauplänen lassen sich Bakterien so programmieren, dass diese die Nanobodies in großen Mengen produzieren – ohne eine weitere Beteiligung von Tieren. (Foto: Irene-Böttcher-Gajewski / MPI für biophysikalische Chemie)

„Die Qualitätsanforderungen für Sekundär-Antikörper sind sehr hoch, weil sie nur Primär-Antikörper aus einer einzigen Tierart und keinerlei Strukturen in den zu analysierenden Zellen oder medizinischen Proben erkennen dürfen. Das Problem war also, Baupläne für wirklich perfekte Sekundär-Nanobodies in die Hände zu bekommen. Begonnen haben wir mit einer Vielzahl von Bauplan-Varianten, die wir aus einer kleinen Menge Blut von zwei immunisierten Alpakas extrahiert haben. Durch ein sogenanntes Phage-Display-Verfahren haben wir dann die besten Varianten herausgefischt und mit diesen schließlich Bakterien für die Nanobody-Produktion programmiert“, erläutert Tino Pleiner, Erstautor der jetzt im *Journal of Cell Biology* erschienenen Arbeit.

Nanobodies wurden erstmals 1993 von einem belgischen Labor beschrieben. Seitdem versuchen Forscher, sie sich für ihre Arbeit im Labor zunutze zu machen. Speziell der Ersatz von Sekundär-Antikörpern ist allerdings alles andere als trivial. Ein Grund dafür ist die Größe der Nanobodies: Sie sind zehnfach kleiner als normale Antikörper. Daher bieten sie weit weniger Fluoreszenzfarbstoff-Molekülen Platz als konventionelle Antikörper und sollten im Mikroskop viel weniger hell leuchten als diese.



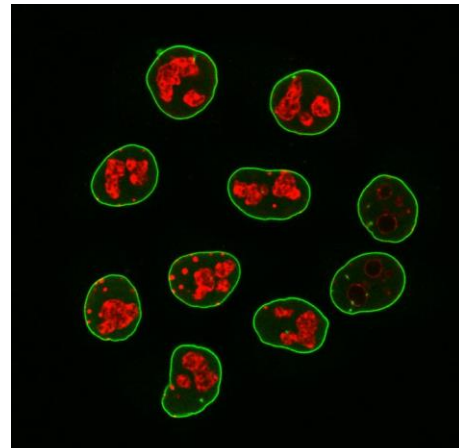
Dreidimensionale Struktur eines Nanobodies.  
(Abbildung: Tino Pleiner und Sergei Trakhanov / MPI für biophysikalische Chemie)

„Unsere ersten Versuche mit Sekundär-Nanobodies waren in der Tat sehr enttäuschend und lieferten nur dunkle und verrauschte Bilder. Wir haben aber nicht aufgegeben, sondern die beiden Alpakas nach einer einjährigen Pause ein weiteres Mal immunisiert und damit ihr Immunsystem dazu gebracht, die Nanobodies weiter zu verbessern. Die Evolution im Reagenzglas, eine spezielle Kopplungs-Strategie für die Fluoreszenzfarbstoffe und der gleichzeitige Einsatz mehrerer Nanobodies taten dann das Übrige“, berichtet Görlich über anfängliche Schwierigkeiten. Jetzt können die Nanobodies in Sachen Signalstärke mit herkömmlichen Antikörpern mithalten.

### Bessere Detailschärfe in der Lichtmikroskopie

Im Labor haben Nanobodies darüber hinaus sogar Vorteile gegenüber sekundären Antikörpern. „Mit höchstauflösender Fluoreszenzmikroskopie beispielsweise kann man theoretisch zelluläre Strukturen im Bereich von wenigen Nanometern optisch voneinander trennen. Doch die dabei verwendeten konventionellen Antikörper haben selbst eine Größe von 15 Nanometern. Das lässt das Bild wieder verschwimmen. Nanobodies hingegen sind mit etwa 3 Nanometern deutlich kleiner, was eine höhere Bildschärfe erlaubt“, so Pleiner.

„Neben der Mikroskopie haben wir die sekundären Nanobodies bereits mit anderen Methoden getestet und die Ergebnisse sind sehr vielversprechend“, betont Görlich. „Wir erwarten, dass unsere Nanobodies die traditionellen Sekundär-Antikörper aus Eseln, Ziegen oder Schafen in vielen Anwendungen ersetzen werden.“ (ad)



Mit Fluoreszenzfarbstoffen gekoppelte Sekundär-Nanobodies können entsprechende Sekundär-Antikörper in der Mikroskopie ersetzen. Gezeigt sind Krebszellen, bei denen Lamin A/C in grün und der Zellvermehrungsmarker Ki-67 in rot gefärbt wurden. (Abbildung: Tino Pleiner / MPI für biophysikalische Chemie)

### Originalveröffentlichung

Tino Pleiner, Mark Bates, Dirk Görlich: A toolbox of anti-mouse and rabbit IgG secondary nanobodies. *Journal of Cell Biology*, doi: 10.1083/jcb.201709115 (2017).

### Weitere Informationen

[www.mpibpc.mpg.de/de/goerlich](http://www.mpibpc.mpg.de/de/goerlich) – Webseite der Abteilung *Zelluläre Logistik*, Max-Planck-Institut für biophysikalische Chemie, Göttingen

### Kontakt

Prof. Dr. Dirk Görlich, Abteilung *Zelluläre Logistik*  
Max-Planck-Institut für biophysikalische Chemie, Göttingen  
Tel.: +49 551 201-2400  
E-Mail: [dgoerli@mpibpc.mpg.de](mailto:dgoerli@mpibpc.mpg.de)

Dr. Frederik Köpper, Presse- und Öffentlichkeitsarbeit  
Max-Planck-Institut für biophysikalische Chemie, Göttingen  
Tel.: +49 551 201-1310  
E-Mail: [frederik.koepper@mpibpc.mpg.de](mailto:frederik.koepper@mpibpc.mpg.de)