

## Zusammenfassung der Bachelor-Abschlussarbeit

### Entwicklung eines Chemilumineszenz basierten Assays für die Allergiediagnostik

Aufgrund der steigenden Prävalenz von allergischen Erkrankungen, darunter auch allergisches Asthma bronchiale oder atopische Dermatitis, ist es von großer Bedeutung, spezifische und sensitive diagnostische Tests zur Verfügung zu haben, die innerhalb kürzester Zeit dem Arzt eine genaue Diagnose und eine zielgerichtete Therapie des Patienten ermöglichen. Das eosinophile kationische Protein (ECP), welches in den Eosinophilen Granulozyten gebildet und durch Degranulation freigesetzt wird, ist dabei ein wichtiger Aktivitätsmarker für Typ-I-Allergien, der oft mit dem Entzündungsgrad und der Schwere der Krankheit korreliert. Ab 15  $\mu\text{g/l}$  gilt der ECP-Wert im Serum als erhöht, weswegen ein Assay in diesem Bereich sehr sensitiv sein muss.

Der Chemilumineszenz-Immunoassay (ChLIA) ist ein Testverfahren mit einer breitgefächerten Anwendung, der sich im Markt beispielsweise auf Grund seines schnellen *Readouts* und hoher Sensitivität etablieren konnte. Für einen ECP-Nachweis gibt es derzeit noch keinen angebotenen ChLIA, jedoch existieren mit ImmunoCAP und ELISA vergleichbare Systeme, die eine Immunkomplexbildung nutzen. Der ChLIA nutzt dabei Antikörper-beschichtete magnetische Partikel (*Beads*), die den Analyten (ECP) aus der Probe binden und diesen über einen Chemilumineszenz-markierten Antikörper detektieren.

Um einen ECP-ChLIA zu entwickeln, wurden die einzelnen Assay-Komponenten nacheinander optimiert und aufeinander eingestellt. Zu Beginn ist mit einem direkten Assay gearbeitet worden, um den Beschichtungsantikörper isoliert verbessern zu können, bevor dann das Layout zu einem Sandwich-Assay angepasst wurde. Hierbei wurde zuerst der Detektionsantikörper optimiert, um im nächsten Schritt das ECP im diagnostisch relevanten Bereich zu titrieren. Die Ergebnisse zeigen, dass bereits ein sensitiver ECP-Sandwichassay etabliert werden konnte, der geringe Mengen ECP nachweisen kann, im diagnostisch relevanten Bereich um 15  $\mu\text{g/l}$  jedoch noch weitere Optimierungen zur Verbesserung der Differenzierbarkeit vorgenommen werden müssen. Basierend darauf kann der Assay mit ersten vorcharakterisierten Patientenproben erprobt werden. Die hier gewonnen Erkenntnisse sind wichtige Grundpfeiler für die vollständige Etablierung, Produktion und spätere Markteinführung eines sensitiven ECP-ChLIA, der Ärzte zuverlässig dabei unterstützt, eine dezidierte Diagnose zu stellen und die bestmögliche Therapie für den Patienten erlaubt.