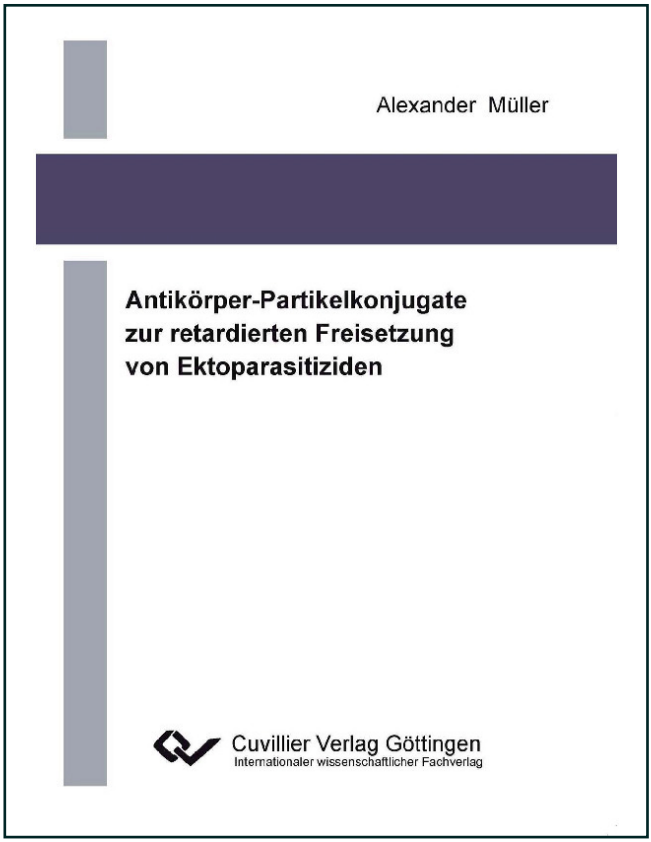
Alexander Müller (Autor)

Antikörper-Partikelkonjugate zur retadierten Freisetzung von Ektoparasitiziden



https://cuvillier.de/de/shop/publications/158

Copyright:
Cuvillier Verlag, Inhaberin Annette Jentzsch-Cuvillier, Nonnenstieg 8, 37075 Göttingen, Germany
Telefon: +49 (0)551 54724-0, E-Mail: info@cuvillier.de, Website: https://cuvillier.de

A. Theoretische Einführung 1

A.1 EINLEITUNG 1

A.1.1 Biokonjugation 1

A.1.2 Orientierung der Anbindung 3

A.2 ZIELSETZUNG DER ARBEIT 4

B. Material und Methoden 6

B.1 SYNTHESESTRATEGIEN 6

B.1.1 Carbodiimid-Synthese 6

B.1.2 Polysaccharid-Synthese 8

B.1.3 Thioether-Synthese 11

B.2 LITERATUR ZUR ANALYTIK VON ANTIKÖRPER-PARTIKELKONJUGATEN 15

B.2.1 Einleitung 15

B.2.2 Chemisch-physikalische Analysenmethoden 15

B.2.3 Funktionelle Analysenmethoden 17

B.2.4 Fazit 18

B.3 GENERIERUNG DER VERWENDETEN ANTIKÖRPER 19

B.4 HERSTELLUNG DER MIKROPARTIKEL 21

B.5 CHARAKTERISIERUNG DISPERSER SYSTEME 22

B.5.1 Messungen der elektrophoretischen Mobilität 22

B.5.2 Dynamische Lichtstreuung 29

B.5.3 Laserdiffraktometrie 30

B.6 SONSTIGE ANALYTISCHE VERFAHREN 31

B.6.1 Röntgenelektronen-Spektroskopie 31

B.6.2 Fluoraldehyd Nachweis 33

B.6.3 Raster-Kraft-Mikroskopie 35

B.7 BESTIMMUNG DER FUNKTIONSFÄHIGKEIT VON ANTIKÖRPER-PARTIKELKONJUGATEN 35

B.7.1 Mikrotiter-Filtrations-ELISA 35

B.7.2 Mikrotiter-Flumethrin-Assay 38

B.7.3 Hochleistungsflüssigchromatographie (HPLC) 40

C. Ergebnisse und Diskussion 43

C.1 METHODENENTWICKLUNG UND VALIDIERUNG MIKROTITER-FLUMETHRIN-ASSAY 43

C.1.1 Voruntersuchungen 43

C.1.1.1 Spektroskopische Untersuchung von Flumethrin 44

C.1.1.2 Auswahl eines Extraktionsmittels für Flumethrin aus Mikropartikeln 45

C.1.2 Validierungsvorschrift 49

C.1.3 Linearität 49

C.1.4 Richtigkeit ... *51*
C.1.5 Präzision ... *52*
C.1.5.1 Wiederholpräzision ... 53
C.1.5.2 Vergleichspräzision ... 53
C.1.6 Selektivität ... *54*
C.1.7 Nachweis und Bestimmungsgrenze ... *56*
C.1.8 Stabilität der Proben während der Analytik ... *57*
C.1.9 Einfluss von Denaturierungsagenzien auf die Bindungsfähigkeit ... *57*
C.1.10 Korrelation von Ergebnissen mit ELISA Daten ... *63*
C.1.11 Untersuchung der Abwaschkinetik ... *65*
C.1.12 Unspezifische Anbindung ... *68*
C.1.13 Versuchsvorschrift ... *68*
C.1.14 Diskussion ... *69*
C.2 CHARAKTERISIERUNG MODIFIZIERTER PARTIKEL ... 70
C.2.1 Untersuchung der Anbindung von Aminokomponenten an Carboxylpartikeln ... *70*
C.2.1.1 Zetapotentialmessung ... 71
C.2.1.2 Elektronenspektroskopie ... 79
C.2.1.3 Eignungsuntersuchung Fluoraldehyd-Assay ... 82
C.2.2 Vergleich von antikörpermodifizierten Partikeln gegenüber unmodifizierten Partikeln ... *84*
C.2.2.1 Zetapotentialmessung ... 84
C.2.2.2 Elektronenspektroskopie ... 85
C.2.2.3 Raster-Kraft-Mikroskopie ... 87
C.2.2.4 Mikrotiter-Flumethrin-Assay ... 91
C.3 CHARAKTERISIERUNG VERSCHIEDENER ANBINDUNGSSTRATEGIEN ... 92
C.3.1 Reaktivität von Proteinen gegenüber NHS-Estern ... *92*
C.3.2 Gegenüberstellung verschiedener Anbindungstrategien ... *95*
C.3.2.1 Carbodiimid-Synthese und Polysaccharid-Synthese ... 95
C.3.2.2 Thioether-Synthese ... 98
C.3.3 Agglomerationsphänomene ... *101*
C.3.3.1 Darstellung der Agglomerationsproblematik ... 101
C.3.3.2 Modellbildung der pH-abhängigen Agglomerationstendenz auf Basis ionischer Wechselwirkungen ... 102
C.3.3.3 Abweichungen von dem Modell ... 106
C.3.3.4 Untersuchungen mit Raster-Kraft-Mikroskopie ... 109
C.3.3.5 Diskussion ... 110
C.4 IN-VIVO UNTERSUCHUNG ... 112
C.4.1 Beschreibung der Studie ... *112*
C.4.2 Validierung der Flumethrin-Analytik von Hundehaarproben mittels HPLC ... *113*
C.4.2.1 Präzision ... 113
C.4.3 Wirksamkeit der wirkstoffbeladenen Antikörper-Partikelkonjugate ... *116*
C.4.3.1 Klinische Untersuchung ... 116

C.4.3.2 Wirkstoffkinetik 118
C.4.4 Diskussion der Studie 119
C.4.5 Stabilitätsuntersuchung von Antikörpern auf Haaren 120

D. Zusammenfassung 124

E. Literaturverzeichnis 127

F. Chemikalien 136

G. Lebenslauf 138