

FACS und MACS

- die Schweizer Taschenmesser im Kampf gegen die Leukämie



FACS-Analyse - den Lymphozyten auf der Spur

T-Zellen, B-Zellen, Natürliche Killerzellen oder Blutstammzellen -im Mikroskop sehen sie alle gleich aus. Aber sie haben alle unterschiedliche Funktionen und dazu besitzen sie unterschiedliche Eiweiße auf der Oberfläche. Anhand dieser Eiweiße können sie unterschieden werden. Zur besseren Übersicht hat man sie durchnummeriert. Von CD1 (CD für Cluster of Differentiation d.h. Unterscheidungsgruppe) bis mittlerweile CD365.

Viele CD Moleküle sind für die Funktion einer Zellen wichtig, wie zum Beispiel CD3, der T-Zellrezeptor. Mit ihm erkennt die T-Zelle fremde Strukturen. Oder CD 25, der Rezeptor für Interleukin 2, mit dem die T-Zellen sich das für sie wichtige Interleukin 2 aus dem Blut holen. Von anderen Molekülen kennen wir die Funktion nicht, aber wir wissen, das nur bestimmte Zellen sie tragen. Nur B-Zellen haben zum Beispiel CD19, und daran können wir sie erkennen. Stammzellen dagegen haben alle CD34 und AC133, und mit monoklonalen Antikörpern, die sich fest an das jeweilige CD-Molekül binden, können wir sie sogar aus dem Blut fischen.

Monoklonale Antikörper - das Schweizermesser der Immunologen

Monoklonale Antikörper sind kleine Eiweiße, die, wenn sie aus der gleichen Zelle stammen, alle gleich sind (monoklonal). Heute werden sie im Labor in großen Mengen hergestellt und mit fluoreszierenden Farbstoffen gekoppelt. Sie heften sich fest an ein bestimmtes CD-Molekül und lassen damit die ganze Zelle aufleuchten. Im Fluoreszenzmikroskop lassen sich damit dann die vielen verschiedenen Lymphzytengruppen leicht unterscheiden. Da das Zählen im Mikroskop sehr mühsam ist, wurde das FACS-Gerät erfunden, mit dem sich die Stärke der Fluoreszenz jeder einzelnen Zellen genau bestimmen lässt.

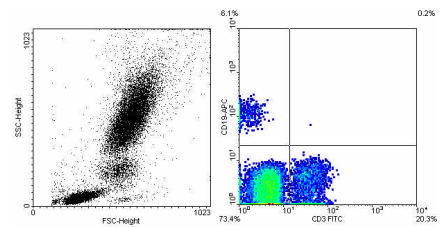
Das FACS-Gerät - das Mikroskop des Immunologen

Leicht lassen sich damit bis Tausende von Zellen innerhalb einer Minute auf bis zu vier verschiedene Fluoreszenzfarbstoffe bestimmen. Mit einem Antikörper gegen CD3, der grün markiert ist, und einem Antikörper gegen CD 19, der rot markiert ist, lassen sich so zum Beispiel T-Zellen von B-Zellen unterscheiden. Wichtig ist dies zur Einteilung von Leukämiezellen, die immer noch die CD-Moleküle der Zellen tragen, aus der sie ursprünglich entstanden sind. Das Bild unten zeigt normales Blut und Blut einer CALLA, der häufigsten Leukämieart bei Kindern. CALLA-Zellen stammen von B-Zellen ab, und deshalb tragen sie CD19. Im Gegensatz zum gesunden Blut besteht das leukämische Blut allerdings nur noch aus solchen Zellen, alle anderen Zellen sind verdrängt worden.

Normales Blut

Die Darstellung anhand von Grösse (FSC-height) und Lichtbrechung (SSC-Height) zeigt viele verschiedene Zellarten an.

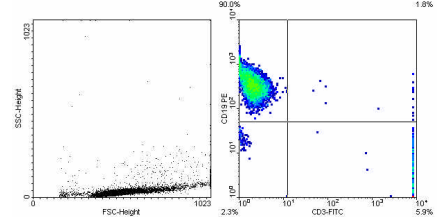
Nach Anfärbung mit monoklonalen Antikörpern kann man T-Zellen (CD3 FITC) und B-Zellen (CD19-APC) von den anderen Zellen unterscheiden



Leukämie vom Typ der CALLA

In der Darstellung von Grösse und Lichtbrechung ist nur noch eine gleichförmige Zellart zu erkennen. Gesunde Zellen sind fast völlig verschwunden.

Nach Anfärbung mit monoklonalen Antikörpern gibt es praktisch nur noch B-Zellen (CD19-PE).



Monoklonale Antikörper sind die Grundlage für Diagnose und Therapie bei Leukämien



Die Reinigung der Stammzellen zur Verwendung bei Patienten mit nicht-passendem Spender findet in einem Reinraum statt. Hier ist alles keimfrei und steril. (links)

unten links: Blutzellen, wie sie mit einer Leukapheremaschine vom Spender gewonnen wurden
Anzahl: 12 000 000 000 Zellen

unten rechts: Nach der Prozedur ist der kleine Anteil an CD34+ Stammzellen zu 99% rein
Anzahl: 230 000 000 Zellen



MACS- Magnetic Activated Cell Separation

Monoklonale Antikörper lassen sich jedoch auch für die Therapie einsetzen. Mit Eisenpartikeln markiert, die im magnetischen Feld selbst magnetisch werden, lassen sich ganze Zellen magnetisch machen, und so rare Zellen wie Stammzellen aus allen anderen Zellen herausfischen.

Dabei laufen die mit magnetischen CD34-Antikörpern markierten Zellen an einem sehr starken Magneten vorbei und bleiben zwischen Eisenkugeln hängen, während alle anderen Zellen vorbeilaufen.

Damit lassen sich Stammzellen, die im Knochenmark nur 1 Prozent ausmachen, zu 99% rein isolieren. Andere Zellen, wie T-Zellen, die bei der Transplantation schwere Nebenwirkungen anrichten können, werden damit aus dem Transplantat entfernt.

Mit diesen Zellen kann man sogar nicht-passende Spender zur Transplantation heranziehen.

Die ungereinigten Stammzellen werden mit magnetischen Antikörpern markiert und in einem Beutel oben an die CliniMACS Maschine gehängt. Durch einen Schlauch laufen die Zellen nun am Magneten vorbei: die CD34+ Stammzellen bleiben hängen, die restlichen Zellen wandern in einen Beutel.



Universitätsklinik für Kinder- und Jugendmedizin Tübingen
Gemeinsames Stammzell-Labor der
Kinderklinik und der Medizinischen Klinik II
Hämatologie / Onkologie – Dr. Michael Schumm - Abteilung I

