

Rekombinante Allergene

# Besser als das Naturprodukt

Rudolf Gruber, Gabriele Egert

Traditionell werden Allergene für die Diagnostik und Therapie aus natürlichen Quellen isoliert, doch mittlerweile ersetzt man die Naturstoffe zunehmend durch gentechnisch hergestellte Proteine. Die so erhaltenen Produkte ermöglichen sensitivere und spezifischere In-vitro- und In-vivo-Tests und stellen bei der Hyposensibilisierung ein geringeres Risiko für den Patienten dar.

**Schlüsselwörter:** Allergie, Allergietests, rekombinante Proteine

Allergene sind Eiweißstoffe aus den unterschiedlichsten biologischen Quellen wie zum Beispiel Pollen, Insektengiften oder Nahrungsmitteln mit vielfältigen biologischen Wirkungen; neben Strukturproteinen findet man Lipocaline, Enzyme, Enzyminhibitoren u. v. m. Bei aller Heterogenität haben sie jedoch ein gemeinsames Merkmal: Sie lösen bei prädisponierten Personen eine überschießende Immunreaktion aus, die vom harmlosen Juckreiz bis zum tödlichen Schock reichen kann.

Allerdings ist der Zusammenhang zwischen Allergenen und allergischer Reaktion nicht immer offensichtlich. So zeichnet sich das Krankheitsbild WDEIA (*wheat dependent exercise induced anaphylaxis*) dadurch aus, dass es nach dem Verzehr von Weizenprodukten mit anschließender körperlicher Anstrengung – und nur dann – zu einer schweren allergischen Reaktion kommen kann, die durch IgE-Antikörper gegen Omega-5-Gliadin ausgelöst wird.

Über viele Jahrzehnte wurden Allergene für diagnostische und therapeutische Zwecke aus natürlichen Quellen gewonnen. Doch mittlerweile ersetzt man die Naturprodukte immer häufiger durch gentechnisch hergestellte (rekombinante) Proteine, da diese wesentlich besser standardisierbar sind.

Test	Nachweis	Prinzip, Bemerkungen
Pricktest (Epicutantest)	Allergen-spezifische IgE-Ak (in vivo)	Gut etablierter Hauttest; gilt bei Erwachsenen als Goldstandard; Risiko einer starken allergischen Reaktion.
RAST/CAP (Multiarray-Verfahren)	Allergen-spezifische IgE-Ak (in vitro)	Wichtigster und am besten standardisierter Immunoassay; korreliert nicht unbedingt mit der klinischen Symptomatik.
Basophilen-Aktivierungstest, CAST	Indirekter, allergen-spezifischer IgE-Nachweis (in vitro)	Bestimmung von CD63, CD203c u. a. auf aktivierten Basophilen (z. B. wenn keine definierten Allergene verfügbar sind).
Lymphozytentransformationstest (LTT)	In-vitro-Ergänzungstests zum Pricktest (z. B. wenn nicht IgE für die allergische Reaktion verantwortlich ist).	Nachweis der gesteigerten DNA-Synthese in Lymphozytenkulturen nach Allergenstimulation (radioaktives Thymin).
ELISPOT-Assay		Enzyme-linked Immuno Spot Assay; Nachweis sezernierter Zytokine oder Antikörper aus Immunzellen nach Allergenstimulation.

Wichtige In-vivo- und In-vitro-Verfahren zum Allergienachweis.

**Nachteile nativer Extrakte**

Auch bei sorgfältiger Extraktion und Aufreinigung erhält man mit traditionellen Verfahren stets eine Mischung von Haupt- und Nebenallergenen sowie (primär nicht-allergenen) Begleitsubstanzen. Durch diese Heterogenität kann z. B. der Erfolg einer Hyposensibilisierung beeinträchtigt werden. Möglicherweise treten auch neue Allergien gegen eine der Begleitsubstanzen auf, und häufig ist die Unterscheidung zwischen einer allergischen Reaktion und einer Kreuzreaktivität unmöglich.

Bereits bei der Auswahl der Quellen muss man zahlreiche Einflussfaktoren beachten; beispielsweise können bei Gräsern unterschiedliche Wachstumsbedingungen zu schwankenden Wirkstoffkonzentrationen führen. Auch die Extraktionsmethoden differieren von Hersteller zu Hersteller, sodass wichtige Allergene wie etwa das oben genannte Omega-5-Gliadin unterrepräsentiert sein können. Dadurch kommt es zu falsch negativen Testergebnissen.

Ein besonderes Risiko stellen Zuckerketten – allen voran CCD (*cross-*

reactive carbohydrate determinants) – das, die nach heutigem Kenntnisstand eigentlich keine allergische Reaktion auslösen. Im In-vitro-Test können sie jedoch zu falsch-positiven Reaktionen führen.

Ein klinisch wichtiges Beispiel ist die durch CCD ausgelöste Kreuzreaktivität gegen natürliche Wespen- und Bienengift-Extrakte. Gerade bei den potenziell lebensbedrohlichen Insektengiftallergien benötigt der Arzt eine klare Aussage, ob der Patient gegen Bienen- oder Wespengift reagiert oder ob in ganz seltenen Fällen tatsächlich eine kombinierte Überempfindlichkeit gegen Wespe und Biene besteht. Biotechnologisch hergestellte Wespengift- und Bienengiftallergene wie *rVes v5* bzw. *rApi m1* ermöglichen in Kombination mit weiteren spezifischen Komponenten eine eindeutige Unterscheidung, sodass die Hyposensibilisierung zielgerichtet erfolgen und der Patient wirksam geschützt werden kann.

### Molekulare Allergiediagnostik

In den letzten 20 Jahren wurden nahezu alle wichtigen Allergene kloniert, sequenziert und in Bakterien, Hefen oder Insekten exprimiert. Die Produkte weisen ähnliche IgE-Bindungseigenschaften auf wie ihr natürliches Pendant und führen zu weitgehend vergleichbaren Reaktionen bei In-vivo- und In-vitro-Tests sowie bei der Hyposensibilisierung.

Für diese innovativen Assays hat sich der Begriff „molekulare“ (manchmal auch „komponentenbasierte“) Allergiediagnostik eingebürgert. Damit soll zum Ausdruck gebracht werden, dass die Allergene nicht aus natürlichen Proteingemischen isoliert, sondern ausgehend von der Gensequenz biotechnologisch synthetisiert wurden. Da die so erhaltenen Präparationen exakt definierte Allergene enthalten und frei von nicht-allergenischen Komponenten sind, ist die Spezifität und

Sensitivität der Antigen-Antikörper-Reaktion deutlich erhöht.

Führende Hersteller der komponentenbasierten Allergiediagnostik wie zum Beispiel Phadia und Euroimmun (siehe unten) kombinieren heute mehrere Allergene in einem einzigen Assay. Dieser Multiplex-Ansatz ist prinzipiell auch mit nativen Allergenextrakten möglich, dort aber aufgrund der geringen Spezifität nicht sinnvoll. Der große Vorteil der Mehrkomponenten-Kits besteht darin, dass mit geringsten Serumkonzentrationen zahlreiche Allergene in einem Analysengang getestet werden können. Dies ist vor allem in der Pädiatrie mit ihren geringen Blutvolumina ein enormer Vorteil.

Prof. Dr. med. Rudolf Gruber  
Dr. Gabriele Egert  
Mitglieder der Redaktion

## EUROIMMUN

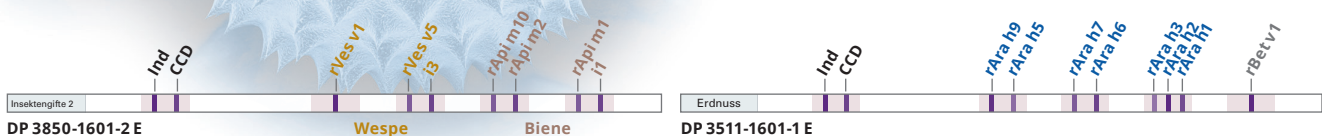
### Indikations-spezifische Profile für die Molekulare Allergiediagnostik: EUROLINE DPA-Dx\*

#### Optimale Therapieentscheidung bei Insektengiftallergien:

- Präzise Unterscheidung von Wespen- und Bienengift-Sensibilisierungen durch Spezies-spezifische Komponenten
- Vereint Extrakt- und Komponenten-basierte Diagnostik auf einem Streifen
- Integrierter CCD-Marker zur Beurteilung von Kreuzreaktionen durch Kohlenhydratstrukturen
- Mit Api m10 als Marker zur optimalen Therapieauswahl

#### Zuverlässige Risikoeinschätzung bei Erdnussallergien:

- Differenzierung echter Erdnussallergien von Pollenassoziierten Kreuzreaktionen
- Fundierte Risikoeinschätzung schwerer systemischer Reaktionen (Anaphylaxie)
- Gezielte Ernährungsberatung bei Sensibilisierung gegen Niedrig-Risikokomponenten
- Geringe Serumkonzentrationen (100–400 µl) – ideal für die Pädiatrie



\* DPA-Dx: Definierte Partial-Allergen-Diagnostik. Andere DPA-Dx Profile vorhanden.

#### Kontaktinformation

EUROIMMUN AG • Dr. Astrid Starke • Telefon 0451/5855-25754 • a.starke@euroimmun.de • www.euroimmun.de