

Zusammenfassung

Zur Beurteilung der Wasserqualität können Markersubstanzen, wie Carbamazepin, Diclofenac, Koffein und Gallensäuren, verwendet werden. Erhöhte Konzentrationen dieser anthropogenen Marker weisen auf Einleitstellen von Abwasser hin und zeigen somit an, wo Gewässer verschmutzt werden. Diese Arbeit beschreibt deshalb die Etablierung, Optimierung und Validierung eines partikelbasierten Suspensionsarray Fluoreszenzimmunoassays (SAFIA), mit dem diese Substanzen gleichzeitig und parallel in vielen Proben quantitativ bestimmt werden können. Für SAFIA wurde das Format des kompetitiven indirekten Immunoassays gewählt. Als Plattform wurden fluoreszenzintensitätscodierte Polystyrol-Kern/Siliziumdioxid-Schale-Partikel, auf deren Oberfläche Haptene als kompetitive Bindungsstellen für Antikörper immobilisiert wurden, verwendet. Hier zeigte sich, dass eine selektive Erkennung der Haptenstruktur auf der Oberfläche der Partikel durch die Antikörper nur gegeben war, wenn die Partikel zusätzlich mit Polyethylenglykolgruppen funktionalisiert wurden. Zum Auslesen des Fluoreszenzsignals wurde ein Durchflusszytometer verwendet. Kompatibilität mit der Durchführung in Mikrotiterplatten wurde erreicht, indem eine Stopp-lösung für den SAFIA, basierend auf Formaldehyd, entwickelt wurde. Nach der Optimierung der Assayparameter können die oben genannten vier Analyten gleichzeitig in einer Probe mindestens bis zu einer Konzentration von $0.3 \mu\text{g L}^{-1}$ nachgewiesen werden. Der Assay kann ohne Wasch-schritte ausgeführt werden und ist somit einfacher als konventionelle Immunoassays, wie z. B. ELISA. Der SAFIA wurde hinsichtlich Interferenzen und Selektivität untersucht. Dabei zeigte sich, dass Matrixbestandteile, die in wässrigen Umweltproben vorkommen, keinen bzw. nur einen ge-ringen Einfluss auf den SAFIA hatten. Im simulierten Umweltscreening eines Flusses und mithilfe der Analyse von Abwasserproben wurde SAFIA validiert; hier zeigte SAFIA eine mit ELISA vergleich-bare Genauigkeit, bei gleichzeitiger Senkung der Analysenzeit und -kosten. Die gleichzeitige Detektion mehrerer anthropogener Marker erlaubte zudem Rückschlüsse auf die Art von Verschmutzungsquellen, im Gegensatz zu ELISA, mit dem nur ein Analyt bestimmt werden kann. Da hochaffine Antikörper für Immunoassays essenziell sind, wurde ein SAFIA zum Screening antikörperproduzierenden Zellen (Hybridomzellen) entwickelt und eingesetzt. Durch die Implementierung eines Sandwichimmunoassays zur IgG Bestimmung und durch Verwendung von homo- und heterologen Haptenstrukturen konnten aus einem Pool von Hybridomzellen diejenigen ausgewählt werden, deren sekretierter Antikörper die geringsten Nachweisgrenzen im Immunoassay erlauben. Damit konnte das Anwendungsspektrum des SAFIA maßgeblich vergrößert werden. Er vereinfacht als biotechnologisches Werkzeug stark sowohl die Produktion von monoklonalen Antikörpern als auch die Analyse von Umweltproben.