



Abb.12

Immunhistochemische Darstellung von ZP3 Protein in Ovargewebeschnitten verschiedener Säugetierspezies. Dargestellt sind Follikel aus Gewebeschnitten von Schweine (1-3), Rinder (4-6) und Mensch Ovarien (7-9). Das Gewebe wurde Methacarn fixiert und in Paraffin eingebettet. Die Gewebeschnitte wurden mit AS ZP 3-5 (1, 4, 7) und AS ZP 3-6 (2, 5, 8) in einer Verdünnung von 1:200 inkubiert. Als Kontrollexperiment erfolgte eine Inkubation der Gewebeschnitte mit Präimmunsrum, 1:200 verdünnt (3, 6, 9). Spezifisch gebundene Antikörper wurden durch das Immun-Peroxidase-System und DAB als Farbreagenz nachgewiesen. Die Zellkerne wurden mit Hämalaun gegengefärbt.

(Originalvergrößerung x 500)

3.5.1 Antikörperreaktionen an humanen Hemizonae

Die Bindung von anti ZP3 Antikörpern an das Zona pellucida 3 Protein humaner Hemizonae, die aus Eizellen gewonnen wurden und die nicht mit Spermatozoen in Kontakt gekommen waren, wurde überprüft. Dabei sollte auch die Intaktheit des Proteingerüsts der Hemizonae durch Einsatz von anti ZP3 Antiseren untersucht und die Bindungskapazität der Antikörper an nicht chemisch behandeltes, natives ZP3 Protein evaluiert werden.

In diesem Testsystem wurden gebundene Antikörper durch das Immun Peroxidase System nachgewiesen.

Nach Einsatz von Antiserum AS ZP3-6 zeigte sich eine kräftige Braunfärbung der Hemizona. Der Rand der Hemizona stellte sich zum Vergleich des zentralen Anteils wesentlich stärker gefärbt dar (Abb.13 A). Es war eine deutliche Ringstruktur erkennbar.

Die als interne Kontrolle verwendete korrespondierende Hemizona wurde mit dem entsprechenden Präimmunserum inkubiert. Diese Zona pellucida Hälfte wies eine nur schwache Braunfärbung auf (Abb.13 B).

Nach Applikation des Antiserums AS ZP3-5 kam es im Gegensatz zu AS ZP3-6 nur zu einer unwesentlich stärkeren Braunfärbung der Testhemizona (inkubiert mit AS ZP3-5) verglichen mit der Kontrollhemizona (inkubiert mit Präimmunserum) (nicht gezeigt).

Dieser Befund weist darauf hin, daß die Affinität der AS ZP3-5 Antikörper für das ZP3 Protein zumindest in diesem Testsystem geringer war als AS ZP3-6 Antikörper.