

Inhaltsverzeichnis

| | |
|--|-----------|
| 1 Einleitung und Aufgabenstellung | 1 |
| 2 Theoretische Grundlagen | 3 |
| 2.1 Immunsystem und Allergien | 3 |
| 2.1.1 Das menschliche Immunsystem | 3 |
| 2.1.2 Antikörper und ihre Bindungseigenschaften | 4 |
| 2.1.3 Allergien | 6 |
| 2.1.4 Allergene und ihre Nomenklatur | 8 |
| 2.1.5 Pollen | 10 |
| 2.1.6 Allergene des Weidelgrases | 12 |
| 2.2 Erhöhte Ozonwerte und ihre Auswirkungen auf Pflanzen | 16 |
| 2.2.1 Erhöhte Ozonwerte | 16 |
| 2.2.2 Auftreten von erhöhten Ozonwerten | 17 |
| 2.2.3 Auswirkungen von erhöhten Ozonwerten auf Pflanzen | 18 |
| 2.2.4 Ozonschäden an Weidelgras | 20 |
| 2.2.5 Pollen und Luftschadstoffe | 21 |
| 2.2.6 Ozonschäden an Weidelgraspollen | 21 |
| 3 Material und Methoden | 25 |
| 3.1 Ozonisierungskammern und Pflanzenmaterial | 25 |
| 3.1.1 Begasungskammern LUA Essen | 25 |
| 3.1.2 Begasungskammern Paderborn | 26 |
| 3.2 Biochemische Analytik | 31 |
| 3.2.1 ELISA (Enzyme linked immunosorbent assay) | 31 |
| 3.2.2 Bestimmung des Gesamtproteingehaltes | 32 |
| 3.2.3 Elektrophorese | 33 |
| 3.2.4 Kapillarelektrophorese | 34 |
| 3.2.5 Proteinfärbung in Gelen | 37 |
| 3.2.6 Blotting | 38 |
| 3.2.7 FTIR-Spektroskopie | 39 |
| 3.2.8 Extraktion | 42 |
| 3.3 Pflanzenmaterial | 43 |

| | |
|---|-----------|
| 4 Ergebnisse und Diskussion | 45 |
| 4.1 Protein- und Allergengehalt | 45 |
| 4.1.1 Klimakammern Paderborn | 45 |
| 4.1.2 Klimakammern Essen | 48 |
| 4.1.3 Fazit | 48 |
| 4.2 SDS-Gelelektrophorese und Blots | 51 |
| 4.2.1 Nachweis der Allergene im Gel | 51 |
| 4.2.2 Vergleich ozonisierte und Kontrollextrakte | 52 |
| 4.3 Kapillarelektronphorese | 55 |
| 4.3.1 Methodenentwicklung | 55 |
| 4.3.2 Versuche zur Identifizierung von Allergenen im Elektrophrogramm | 56 |
| 4.3.3 Vergleich von ozonisierten und Kontrollextrakten | 58 |
| 4.3.4 Fazit | 61 |
| 4.4 FTIR | 62 |
| 4.4.1 Spektren | 62 |
| 4.4.2 Vergleich begaste - unbegaste Probe | 63 |
| 4.4.3 Fazit | 66 |
| 5 Zusammenfassung und Ausblick | 69 |
| A Abkürzungsverzeichnis | 73 |
| B Begasungsversuche und Pflanzen | 75 |
| B.0.4 <i>Lolium multiflorum</i> | 75 |
| B.0.5 <i>Lolium perenne</i> | 75 |
| B.0.6 <i>Lolium westerwoldicum</i> | 75 |
| B.0.7 Verwendete Materialien | 76 |
| B.0.8 Lampen in den Klimakammern | 76 |
| B.0.9 Kalibrierung der Feuchtesensoren | 77 |
| C Versuchsdurchführungen | 79 |
| C.1 Extraktion der Pollen | 79 |
| C.2 Proteingesamtbestimmung (Lowry-Test) | 79 |
| C.3 ELISA | 80 |
| C.4 Denaturierende, nicht reduzierende SDS-Gelelektrophorese | 81 |
| C.4.1 Puffer | 81 |
| C.4.2 Gießen des Gels | 81 |
| C.4.3 Vorbereitung der Proben | 82 |
| C.4.4 Durchführung der Elektrophorese | 82 |
| C.5 Kolloidale Coomassiefärbung | 82 |
| C.6 Westernblot im Anschluss an die Gelelektrophorese | 83 |
| C.6.1 Semidry | 83 |

| | |
|---|-----------|
| C.6.2 Kapillarblot | 84 |
| C.7 Immunchemische Detektion | 85 |
| C.8 Kapillarelektrophorese | 86 |
| C.9 FTIR | 86 |
| C.10 Chemikalien und Reagenzien | 87 |
| Literaturverzeichnis | 88 |