

6. Zusammenfassung

Ziel der Arbeit war die topographische und funktionelle Charakterisierung eines Hüllglykoproteins des Stammes Alfort/187 des Virus der Europäischen Schweinepest (ESP).

Zu diesem Zweck wurden monoklonale Antikörper (mAk) gegen den Stamm Alfort hergestellt. Aus zwei Fusionen konnten insgesamt 17 stabile Hybridzelllinien, die virusspezifische Antikörper produzierten, etabliert werden. Alle Hybridome sezernierten Antikörper der Immunglobulin G Klasse. Es wurde das Reaktionsspektrum der mAk mit 10 ESP-, 33 BVD (Bovine Virusdiarrhoe)- und zwei "Border Disease" Virusstämmen und -isolaten bestimmt. Dazu wurde ein indirekter "Infected Monolayer Enzyme Immunoassay" (IM-EIA) verwendet. Aufgrund des Reaktionsspektrums mit den verschiedenen Pestiviren wurde eine Einteilung der mAk in fünf Gruppen vorgenommen. Zehn der 17 mAk neutralisierten das homologe Virus.

In der Radioimmunpräzipitation reagierten 15 mAk mit einer Doppelbande im Bereich von 56-60 kD, die das große Hüllglykoprotein gp 53 repräsentierte. Zwei nicht neutralisierende mAk (HC/TC 66 und -69) zeigten eine starke Reaktion mit einem Protein von etwa 30 kD sowie eine schwache Reaktion mit der langsamer wandernden Bande der Doppelbande. Diese Beobachtung führte zu der Vermutung, daß sie gegen das gp 33 gerichtet waren. Einer der beiden mAk (HC/TC 69) war pestivirus-spezifisch.

Epitop-Blockierungsversuche wurden mit 13 markierten und 19 nicht markierten mAk durchgeführt. In die Untersuchungen wurden die mAk HC/37 bzw. HC/34 und HC/TC 26, die zwei Domänen, A und B, auf dem 56-60 kD Protein definierten (GREISER-WILKE et al. 1990), einbezogen.

Die Ergebnisse der Wettbewerbsversuche zeigten, daß die meisten mAk gegen Epitope der Domänen A und B gerichtet waren. Zwei weitere Domänen wurden definiert und mit C und D bezeichnet.

Auf der Domäne A befanden sich mit einer Ausnahme nur Epitope, die durch ESP-viruspezifische mAk definiert wurden. Wettbewerbsversuche von EDWARDS et al. (1991) zeigten, daß die Domäne A auf dem gp 53 des ESP-Virus-Stammes Alfort der von WENSVOORT (1989a,b) auf dem gp 53 des Stammes Brescia beschriebenen Domäne A entspricht. Diese Domäne repräsentiert eine unter allen ESP-Viren stark konservierte Region. Domäne B enthielt Epitope, die durch mit BVD- und "Border Disease" Viren kreuzreagierende mAk definiert wurden. Die Domäne D wurde durch einen der beiden gp 33-spezifischen mAk identifiziert (HC/TC 66). Bei den Wettbewerbsversuchen trat unidirektionelle Konkurrenz mit mAk gegen die Domänen A, B und C und mit drei weiteren mAk, deren zugehörige Epitope keiner Domäne zugeordnet werden konnten, auf. Diese Ein-Weg-Konkurrenz konnte durch Konformationsänderungen erklärt werden.

Vier Antikörper, die Epitope der Domänen B und C definierten, bewirkten eine verstärkte Bindung von Peroxidase-markierten Antikörpern gegen Epitope der Domäne A. Dieses Phänomen konnte in umgekehrter Richtung nicht beobachtet werden. Ursache war wahrscheinlich eine Konformationsänderung.

Neutralisationsrelevante Epitope befanden sich auf den Domänen A, B und C. Der Domäne A wurden auch Epitope zugeordnet, die durch nicht neutralisierende Antikörper definiert wurden.

7. Summary

Sigge, Claudia: Topological and functional characterization of some antigenic domains on an envelope glycoprotein of hog cholera virus strain Alfort.

The aim of this study was the topological and functional characterization of an envelope glycoprotein of hog cholera (HC) virus strain Alfort/187.

For this purpose monoclonal antibodies (mabs) were raised against the Alfort strain. Seventeen hybridoma cell lines producing virus-specific antibodies were obtained from two fusions. All hybridomas secreted antibodies belonging to the immunoglobulin G class. The reactivity pattern of the mabs with 10 HC-, 33 bovine viral diarrhoea (BVD)- and two border disease virus strains and isolates was determined by using an indirect infected monolayer enzyme immunoassay (IM-EIA). Depending on the reactivity pattern with the different pestiviruses the mabs were arranged in five groups. Ten of the seventeen mabs neutralized the homologous Alfort strain.

In radioimmunoprecipitation analysis 15 mabs reacted with a doublet of 56-60 kDa representing the major envelope glycoprotein gp 53. Two non-neutralizing mabs (HC/TC 66 and HC/TC 69) exhibited a strong reaction with a protein of 30 kDa and a weak reaction with the upper band of the doublet. This finding suggested that they were directed against the gp 33 protein. One of the mabs (HC/TC 69) was pestivirus-specific.

Epitope blocking assays were performed with 13 labeled and 19 unlabeled mabs. These included mabs HC/34 and HC/37, respectively, and HC/TC 26 defining two antigenic domains A and B on the 56-60 kDa protein (GREISER-WILKE et al., 1990).

The results of the blocking assays demonstrated that most of the mabs were directed against epitopes on the domains A and B. Two additional domains were defined and designated domain C and D.

With one exception all epitopes located on domain A were defined by HC virus specific mabs. Blocking assays carried out by EDWARDS et al. (1991) demonstrated that the domain A on the gp 53 of Alfort strain and the domain A on the gp 53 of Brescia strain described by WENSVOORT (1989a,b) are identical. This domain represents a highly conserved region among all HC viruses. Domain B contained epitopes that were identified by mabs crossreacting with BVD- and border disease viruses. Domain D was identified by one of the gp 33-specific mabs (HC/TC 66). In the blocking assays unidirectional blocking was observed with mabs belonging to domains A, B, and C and three mabs that defined epitopes that could not be arranged to one of the domains. This one-way-competition was probably due to conformational changes.

Binding of four antibodies defining epitopes on domains B and C led to enhanced binding of peroxidase conjugates of mabs belonging to epitopes of domain A. The enhancement phenomenon was unidirectional and probably caused by conformational changes.

Domains A, B, and C contained epitopes that were involved in neutralization. Domain A had additional epitopes defined by non-neutralizing mabs.