

E. ZUSAMMENFASSUNG

In der vorliegenden Arbeit wurde zum Nachweis von Antikörpern gegen Prothymosin alpha ein indirekter ELISA etabliert, in dem Antikörper verschiedener Tierarten nachgewiesen werden konnten.

Zur Erzeugung von Antikörpern gegen Prothymosin alpha wurden Kaninchen, Mäuse und Hühner immunisiert. Als Antigen wurde gereinigtes Prothymosin alpha aus bovinem Thymus verwendet. Es wurde auch azetyliert oder an KLH bzw. Pam₃-Cys-Ser-Ly₄-OH gekoppelt und mit Adjuvans vermischt injiziert.

Die Kaninchen und die überwiegende Zahl der Mäuse zeigten keine Bildung spezifischer Antikörper im Serum. Mäuse, die mit einem Konjugat aus Prothymosin alpha und Pam₃-Cys-Ser-Ly₄-OH geimpft wurden, und Hühner entwickelten Antikörper gegen das Protein.

Aus den Lymphozyten immunisierter Mäuse wurden Hybridzellen durch Fusion mit Myelomzellen hergestellt. Aus 13 Fusionen wurde ein Hybridoma etabliert, das spezifische, monoklonale Antikörper sezerniert. Diese gehören der Subklasse IgG1 an und kreuzreagieren mit dem Protein Thymosin alpha 1. Durch Ammoniumsulfatfällung und Affinitätschromatographie über eine GAM-Säule konnte der Antikörper aus dem Zellkulturüberstand konzentriert werden.

Spezifische Antikörper wurden mit Hilfe von Polyethylenglykol auch aus den Eiern immunisierter Hennen isoliert. Dabei ließen sich über die Dauer von zwei Monaten von einer Henne durchschnittlich 570 mg Antikörper extrahieren. Die isolierten Immunglobuline waren elektrophoretisch rein. Die Überprüfung der Kreuzreaktivität der Eiantikörper gegen Thymosin alpha 1 zeigte bei einem Huhn eine positive, bei den anderen Hühnern keine Reaktion.

F. SUMMARY

Pape, Iska: Production and characterization of antibodies against prothymosin alpha.

In this study an indirect ELISA for the detection of antibodies against prothymosin alpha was established.

Rabbits, mice and chicken were immunized in order to produce antibodies against prothymosin alpha. The purified prothymosin alpha isolated from bovine thymus was used as antigen. It was either acetylated or coupled to KLH and to Pam₃-Cys-Ser-Ly₄-OH, respectively, and injected after emulsifying with adjuvant.

The rabbits and most of the mice did not show the formation of specific antibodies in the serum. However, the mice which were immunized by a conjugate of prothymosin alpha and Pam₃-Cys-Ser-Ly₄-OH and the chicken developed antibodies against the protein.

Lymphocytes from immunized mice were hybridized with myeloma cells to produce monoclonal antibodies. One hybridoma cell line secreting specific monoclonal antibodies was established. The monoclonal antibody belongs to the immunoglobulin subclass G1. It crossreacts with thymosin alpha 1. By means of precipitation with ammonium sulfate and immunoaffinity-chromatography antibodies could be concentrated from supernatant.

Specific immunoglobulins were isolated from eggs of immunized hens using polyethylenglycole. One hen yielded an average of 570 mg of antibodies over a period of two months. Isolated immunoglobulins showed a high grade of purity. When the cross-reactivity against thymosin alpha 1 was examined, the antibody fraction of the eggs of one hen, only, showed a positive reaction, the others did not.