

## 5. Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit wird die Herstellung monoklonaler Antikörper gegen eLH / eCG beschrieben. Einer der produzierten Antikörper wurde zur Messung von eCG / eLH beim Pferd in einem kompetitiven homologen EIA eingesetzt.

Grundlage für die Antikörperproduktion und die Assayentwicklung war, daß ein homologer EIA zur Messung von eCG / eLH im Blutplasma von Pferden bisher nicht verfügbar war.

Die eLH-Konzentrationsbestimmung mit verschiedenen heterologen Meßsystemen birgt Unsicherheiten in sich, da im Blutplasma verschiedene Isoformen von eLH / eCG vorkommen.

Die Immunisierung der Mäuse erfolgte mit intaktem eLH und reduziertem und reoxidiertem eLH und eFSH, das aus einem Hypophysenextrakt hergestellt wurde. Die aus der Milz gewonnenen B-Lymphozyten wurden mit NS-0 Zellen fusioniert. Insgesamt wurden 4 Hybridome näher untersucht. Zwei dieser Hybridome (1D5 und 4B9) erkannten eLH und eFSH. Diese zwei Hybridome wurden auf serumfreie Produktion umgestellt und anschließend durch Ultrafiltration konzentriert und eingefroren.

Die beiden anderen Hybridome (110C7 und 15E3) erkannten in den Kompetitions-testen nur eLH. Der Antikörper 15E3 war nicht in Lage, eLH im Verlauf eines Stutenzyklus zu erkennen, weshalb er in dieser Arbeit nicht weiter zur EIA-Entwicklung verwendet wurde.

Mit dem Antikörper 110C7 wurde ein kompetitiver EIA aufgebaut. Die eCG-Konzentrationsbestimmung erfolgte bei 11 tragenden Stuten, davon wurde bei 3 tragenden Stuten der eCG-Verlauf über die gesamte Trächtigkeit bestimmt. Bei den anderen 8 Stuten wurde die eCG-Konzentration zu Beginn der Trächtigkeit bestimmt. Die Ergebnisse wurden mit einem heterologen EIA verglichen. Und sie zeigten einen mittleren Zusammenhang.

Unterschiede im Verlauf können durch eine unterschiedliche Isoformenerkennung der Antikörper bedingt sein.

Um eCG-Werte, die für eine Trächtigkeit sprechen, von eLH-Werten während des Zyklus abzugrenzen, wurde der eLH-Konzentrationsverlauf während eines Stutenzyklus bestimmt.

Die Diagnose Trächtigkeit kann mit dem entwickelten EIA etwa ab dem 37. Tag p. inseminationem durch die Untersuchung einer einzelnen Blutprobe gestellt werden. Ein positives Ergebnis liegt vor, wenn die eCG-Konzentration höher als 33 ng/ml liegt.

Mit dieser Arbeit konnte gezeigt werden, daß der Antikörper 110C7 geeignet ist, einen kompetitiven EIA zur eCG-Bestimmung und damit zur Trächtigkeitsdiagnose einzusetzen.

Sonja Bartkowski

Monoclonal antibodies against equine luteinizing hormone / chorionic gonadotropin and use in immunoassay.

## 6. Summary

In the present study the production of monoclonal antibodies (mab) against equine luteinizing hormone (eLH) / chorionic gonadotropin (eCG) is described. One of the produced antibodies was used for the measurement of eLH / eCG in the horse in a competitive homologous EIA.

Measurement with heterologous assay systems are often compromised by a lack of specificity and / or sensitivity, as the circulating eLH / eCG is heterogeneous population. Some mice were immunized with intact eLH and with reduced and reoxidated eLH and eFSH, which has been produced from equine pituitary extract. It was possible to establish 4 hybridomas. Two of these were produced in serum free medium, concentrated and frozen.

Two hybridomas (110C7 and 15E3) showed only affinity to eLH. The mab 15E3 was not able to bind to native eLH from a cycling mare.

With the mab 110C7 a competitive EIA was established. The concentration of eCG was tested in 11 pregnant mares. In 3 mares the eCG-concentration was measured throughout the pregnancy and in 8 cases the eCG-concentration was determined during the first weeks of pregnancy. The results were compared with results from a heterologous EIA and they showed a medium correlation.

Differences in the course of eCG-concentration is may be due to a different binding affinity to isoforms.

eCG values during pregnancy could be clearly distinguished during the ovarian cycle.

With this study it was possible to show that using mab 110C7 in a competitive EIA could be established suitable for the diagnosis of a pregnancy in the mare. It is

possible to diagnose a pregnancy from day 37 p. insemin. with a single blood sample.  
A eCG-concentration higher than 33 ng/ml speaks for the presence of a pregnancy.