

6 Zusammenfassung

Mit der vorliegenden Arbeit sollte untersucht werden, welche Fraktionen des komplexen Proteingemisches des Sarcoptes-Milbenextraktes die spezifischen Sarcoptes-Antikörper zu binden vermögen, also antigen wirksam sind.

Voraussetzung für die Untersuchungen war eine qualitativ und quantitativ hinreichende Antigenpräparation in Form eines Milbenextraktes.

Für seine Herstellung wurden Sarcoptes-Milben von natürlich infizierten, toten Rotfüchsen durch Entnahme von Geschabseln gewonnen. Durch ein sich anschließendes Auswanderungsverfahren wurden die Milben isoliert und verarbeitet. Das so entstandene komplexe Proteingemisch wird auch als Rohantigen bezeichnet, da es durch Homogenisierung des gesamten Milbenkörpers hergestellt wurde.

Durch die eindimensionale SDS-PAGE wurde das Proteingemisch gemäß der unterschiedlichen Molekulargewichte in 33 Banden im Bereich zwischen 15-225 kDa aufgetrennt.

Von diesen Proteinbanden wurden 18 durch spezifische Antikörper im Immunoblot erkannt und gebunden.

Durch die 2-D Gelelektrophorese erfolgte die Auftrennung sowohl aufgrund der unterschiedlichen isoelektrischen Punkte, als auch aufgrund der unterschiedlichen Molekulargewichte. So ließen sich die spezifischen Antikörper-bindenden Proteinbanden aus der eindimensionalen Elektrophorese detaillierter darstellen. Zusätzlich wurde durch Anwendung dieser Methode eine größtmögliche biochemische Reinheit der Protein-Spots erreicht, die die nachfolgende Sequenzierung ermöglichte.

Vor der Durchführung der Sequenzanalyse wurden die Protein-Spots auf eine PVDF-Membran geblottet und nach dem Blot mittels Coomassie-Färbung sichtbar gemacht.

Die Sequenzierung erbrachte von insgesamt 8 Spots bei zweien ein Ergebnis.

Bei Spot 11 wurde folgende Sequenz ermittelt: (Ala/Ser) Pro Asn His Asp Lys Ala Phe Asp (Val/Glu) Leu – Val, bei Spot 12: (Met/Gln) (Lys/Ser/Gly) Asn (Lys/Ser) Ala Val Leu Leu Gly Val Tyr Glu Asn – Asp,