

AUS DEM
INSTITUT FÜR MEDIZINISCHE
MIKROBIOLOGIE UND VIROLOGIE
(DIREKTOR: PROF. DR. U. ULLMANN)
IM ZENTRUM KLINISCH-THEORETISCHE MEDIZIN I
DES KLINIKUMS DER
CHRISTIAN-ALBRECHTS-UNIVERSITÄT ZU KIEL

Das Virus der Hundestaupe

Molekular-epidemiologische Untersuchungen
eines *emerging* Morbillivirus

Habilitationsschrift
zur Erlangung der Venia legendi
der
Medizinischen Fakultät
der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel

Vorgelegt von
Dr. *med. vet.* Timm C. Harder, PhD
aus Rendsburg

2001

Harder, Timm C.

Das Virus der Hundestaube –Molekular-epidemiologische Untersuchungen eines *emerging* Morbillivirus.

Kumulative Habilitationsschrift Medizinische Fakultät der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel

Der Text wurde mittels L^AT_EX(Koma-Script, PDF-L^AT_EX) und den Typen Bergamo (Bembo-Klon) und Syntax der Fa. Softmake gesetzt. Die Negativkontrast-Elektronenmikroskopie der Abbildung 1 wurde von Frau Hammer-Uchtrin, Institut für Medizinische Mikrobiologie und Virologie, angefertigt.

Alles ist Ufer.

Gottfried Benn, *Gesänge II*, 1913

Schriften des Instituts für Medizinische Mikrobiologie und
Virologie der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel

Band 4

Timm C. Harder

Das Virus der Hundestaube

Molekular-epidemiologische Untersuchungen
eines *emerging* Morbillivirus

Shaker Verlag
Aachen 2003

Die Deutsche Bibliothek - CIP-Einheitsaufnahme

Harder, Timm C.:

Das Virus der Hundestaube: Molekular-epidemiologische Untersuchungen eines *emerging* Morbillivirus / Timm C. Harder.

Aachen : Shaker, 2003

(Schriften des Instituts für Medizinische Mikrobiologie und Virologie der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel ; Bd. 4)

Zugl.: Kiel, Univ., Habil.-Schr., 2001

ISBN3-8322-1282-5

Copyright Shaker Verlag 2003

Alle Rechte, auch das des auszugsweisen Nachdruckes, der auszugsweisen oder vollständigen Wiedergabe, der Speicherung in Datenverarbeitungsanlagen und der Übersetzung, vorbehalten.

Printed in Germany.

ISBN 3-8322-1282-5

ISSN 0948-7840

Shaker Verlag GmbH • Postfach 101818 • 52018 Aachen

Telefon: 02407 / 95 96 - 0 • Telefax: 02407 / 95 96 - 9

Internet: www.shaker.de • eMail: info@shaker.de

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung	1
1.1. Epidemiologie und Kontrolle von CDV Infektionen	1
1.2. Klinik und Diagnostik der Staupe	2
1.3. Molekularbiologie des CDV	2
2. Fragestellung	6
3. Methodik	7
3.1. Zelllinien	7
3.2. Lymphozytenkulturen	7
3.3. Hundestaupevirus	7
3.4. Virusisolierung	7
3.5. Nachweis neutralisierender Antikörper	8
3.6. ELISA-Techniken	8
3.7. Immunoblottechniken, Radioimmunopräzipitation	8
3.8. Hybridomatechnologie	9
3.9. Reverse Transkriptase PCR (RT-PCR), DNA-Hybridisierung	9
3.10. Klonierungs- und Sequenzierungsverfahren	10
3.11. Baculovirusexpression	10
3.12. Bioinformatik und Statistik	12
4. Ergebnisse	12
4.1. Originalschrift 1	12
4.1.1. Phylogenetischer Nachweis von genuinem CDV in erkrankten Serengeti-Löwen	12
4.2. Originalschrift 2	14
4.2.1. Phylogenetische Analyse von CDV Isolaten erkrankter Grosskatzen aus Zoohaltungen in den U.S.A.	14
4.2.2. Ein Grosskatzen-CDV-Isolat induziert eine asymptomatische Infektion in Hauskatzen	16
4.3. Originalschrift 3	17
4.3.1. Molekular-epidemiologische Analyse der M-F Region von europäischen CDV Wildtypisolaten	17
4.4. Originalschrift 4	19
4.4.1. Entwicklung eines CDV Immunglobulin M- und G-spezifischen ELISAs mittels eines rekombinanten diagnostischen Antigens	19

5. Diskussion	21
5.1. Charakterisierung von Morbilliviren feliner Wirte	22
5.2. Molekulare Epidemiologie caniner Morbilliviren	24
5.3. Expansion des Wirtsspektrums caniner Morbilliviren ?	24
6. Zusammenfassung	27
7. Literatur	29
8. Curriculum vitae	37
9. Danksagung	37

Abbildungsverzeichnis

1. Morphologie, Genom, Transkriptions- und Translationsmechanismen der Morbilliviren	4
2. Expression von rekombinantem CDV N Protein in <i>Heliothis virescens</i> -Raupen mit dem Bacmid-System™	11
3. Phylogenetischer Baum der Morbilliviren basierend auf der Analyse eines 388 bp P Genfragments	13
4. Phylogenetische Analyse von Morbilliviren basierend auf Sequenzen eines 388 bp grossen P Genfragments und des Leserahlers des H Genes (1850 bp)	15
5. Experimentelle intratracheale Infektion zweier Hauskatzen mit Gewebehomogenaten eines CDV-positiven Amurleoparden	16
6. Lokalisation von AUG Kodons (potentielle Translationsinitiation) im nicht-translatierten 5'-Bereich der CDV F mRNA	18
7. Zeitabhängige Expression des N Proteins von CDV 2544 in <i>Heliothis virescens</i> Raupen	20
8. Schematische Darstellung epidemiologischer Zusammenhänge bei der Übertragung caniner Morbilliviren	22
9. Phylogenetischer Stammbaum caniner Morbilliviren	25

Tabellenverzeichnis

1. Detektion akuter CDV Wildtypinfektionen durch RT-PCR und einen rekombinanten IgM-spezifischen ELISA	21
------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	----

Abkürzungsverzeichnis

AcMNPV	<i>Autographa californica</i> Multiple Nuclear Polyhedrosis Virus
ATCC	<i>American Type Culture Collection</i>
AUG	Kanonisches Startkodon der <i>messenger</i> Ribonukleinsäure
Bac	Baculovirus
bp	Basenpaar
Bus	Vakzinestamm «Bussell»
CDV	<i>canine distemper virus</i> , engl.: Hundestaupevirus
DMV	Delfinmorbillivirus
DNA	Desoxyribonukleinsäure
ELISA	<i>enzyme-linked immunosorbent assay</i>
F	Fusionsprotein der Morbilliviren
H	Hämagglutinationsäquivalentes Protein der Morbilliviren
KID ₅₀	Kultur-infektiöse Dosis 50 %
L	<i>large</i> Protein der Morbilliviren
M	Matrixprotein der Morbilliviren
mAk	monoklonaler Antikörper
M-F UTR	Nicht-translatierte Genomregion zwischen dem M und F Gen von Morbilliviren
mRNA	<i>messenger</i> Ribonukleinsäure
MV	Masernvirus
N	Nukleokapsidprotein der Morbilliviren
nAk	neutralisierender Antikörper
Ond	Vakzinestamm «Onderstepoort»
P	Phosphoprotein der Morbilliviren
PBMC	<i>peripheral blood mononuclear cells</i> , engl.: mononukleäre Zellen des strömenden Blutes
PCR	Polymerase-Kettenreaktion
PDV-1, -2	<i>phocid distemper virus</i> , engl.: Seehundstaupevirus Typ-1 bzw. -2
RNA	Ribonukleinsäure
ROC	Vakzinestamm «Rockborn»
RPV	Rinderpestvirus
RT	Reverse Transkriptase
SDS	Sodiumdodecylsulfat
Sf	<i>Spodoptera frugiperda</i>
ZNS	Zentrales Nervensystem

VORGELEGTE ORIGINALSCHRIFTEN:

1. Harder TC, Kenter M, Roelke-Parker ME, Barrett T, Osterhaus ADME (1995) Phylogenetic evidence of canine distemper virus in Serengeti's lions. *Vaccine* 3: 521–523. Impact factor: 1.949
2. Harder TC, Kenter M, Vos HW, Siebelink K, Huisman W, van Amerongen G, Örvell C, Barrett T, Appel M, Osterhaus ADME (1996) Canine distemper virus from diseased large felids: Biological properties and phylogenetic relationships. *J Gen Virol* 77: 397–405. Impact factor: 2.863
3. Liermann H, Harder TC, Löchelt M, von Messling V, Baumgärtner W, Moennig V, Haas L (1998) Genetic analysis of the central untranslated genome region and the proximal coding part of the F gene of wild-type and vaccine canine distemper morbilliviruses. *Virus Genes* 17: 259–270. Impact factor: 1.159
4. von Messling V, Harder TC, Moennig V, Rautenberg P, Nolte I, Haas L (1999) Rapid and sensitive detection of immunoglobulin M (IgM) and IgG antibodies against canine distemper virus by a new recombinant nucleocapsid protein-based enzyme-linked immunosorbent assay. *J Clin Microbiol* 37: 1049–1056. Impact factor: 3.783

UNTER WEITERER VERWENDUNG DER ÜBERSICHTSARBEITEN:

1. Harder TC, Osterhaus ADME (1997) Canine distemper virus - a morbillivirus in search of new hosts ? *Trends Microbiol* 5: 120–123. Impact factor: 5.2
2. Harder TC, Osterhaus ADME (2000). Canine distemper virus. In: *Encyclopedia of Life Sciences*, Nature Publishing Group, Dublin, Rep. Ireland, pp 5069-5078.