

*Neopeptide specific monoclonal antibodies to detect the catalytic activity of botulinum neurotoxin serotypes A to F*

Botulinum Neurotoxine (BoNTs) sind die giftigsten bekannten Substanzen und lösen das seltene, aber lebensbedrohliche neurologische Krankheitsbild Botulismus aus, eine nach §§ 6, 7 IfSG meldepflichtige Erkrankung. Die Diagnostik von Botulismus stellt aufgrund der hohen Toxizität der BoNTs und der hohen Variabilität innerhalb der Proteinfamilie (8 Serotypen mit mehr als 40 Subtypen, bis zu 36% Sequenzvariabilität auf Aminosäureebene) eine technische Herausforderung dar. Obwohl der Maus-Bioassay ethisch umstritten ist, wird er immer noch in der Routinediagnostik verwendet, weil er alle bekannten – und auch die noch unbekannt – BoNT-Varianten sicher erfasst, kleinste Mengen BoNT nachweist, und weil er in einer fast 30 Jahre alten DIN-Vorschrift für die BoNT-Diagnostik empfohlen wird.

Ziel unserer Arbeit war es ein Verfahren zu entwickeln, welches einen essentiellen Schritt der BoNT-Wirkung *in vitro* abbildet: die Spaltung synaptischer Proteine, welche die Fusion synaptischer Vesikel mit der synaptischen Membran vermitteln. Alle BoNTs spalten bestimmte synaptische Substratproteine Serotyp-spezifisch an einer einzigen Peptidbindung. Die Detektion der spezifischen Spaltstellen auf den jeweiligen Substratproteinen ermöglicht somit zum einen die Unterscheidung einzelner Serotypen und zum anderen die Darstellung der katalytischen Aktivität von BoNT. In diesem Zusammenhang gelang es uns, Neopeptid-spezifische monoklonale Antikörper (Neo-mAK) zu etablieren, die in der Lage sind, die von BoNT spezifisch geschnittenen synaptischen Substrate zu binden, während die ungeschnittenen Substrate jeweils nicht erkannt werden. Das Prinzip wurde erfolgreich genutzt, um die enzymatische Aktivität der Serotypen BoNT/A, B, C, D, E und F mittels eines Endopep-ELISAs hochsensitiv aus Serumproben nachzuweisen. Die in der Arbeit hergestellten Neo-mAKs leisten daher einen wichtigen Beitrag, um den Maus-Bioassay in der Botulismus-Diagnostik mittelfristig durch ein *in vitro* Verfahren ersetzen zu können.