

Faag-display als bron voor diagnostische antistoffen

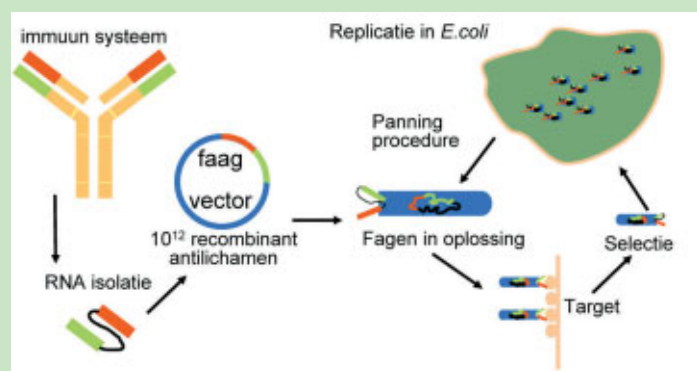
Arjen Speksnijder, Jules Beekwilder, Joop van Doorn

Uitgangspunt

In de land- en tuinbouw is er grote behoefte om snel en goedkoop pathogene schimmels en bacteriën te kunnen detecteren. Snelle vaststelling betekent grote milieuwinst en beperking van het opbrengstverlies van gewassen. Hiervoor wordt een groot aantal diagnostische tests toegepast, gebruikmakend van kwalitatief hoogwaardige antisera die vooral in konijnen opgewekt worden. Het probleem bij de conventionele antisera is dat plantenextracten soms een hoge achtergrond geven bij de detectie van virussen. Daarnaast zijn er weinig toetsen beschikbaar voor schimmels door problemen met kruisreactiviteit. Ook is samenstelling van sera heterogeen omdat productie vanuit bloed van proefdieren plaatsvindt. Faag-display, een laboratoriumtechniek waarmee via moleculaire technieken recombinant antilichamen worden geselecteerd/verkregen om ze vervolgens goedkoop en universeel te laten produceren door bacteriën of gist, biedt mogelijk een alternatief. Recombinante antisera zijn zeer specifiek en kunnen een oplossing bieden voor de achtergrond en kruisreactiviteitsproblemen. Daarbij is een goede zuivering mogelijk met een lage achtergrond van andere eiwitten. Dit is een belangrijk voordeel in nieuwe micro- en nano-technologie toepassingen.

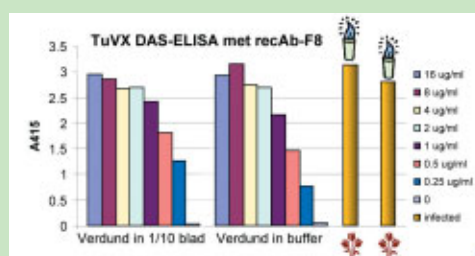
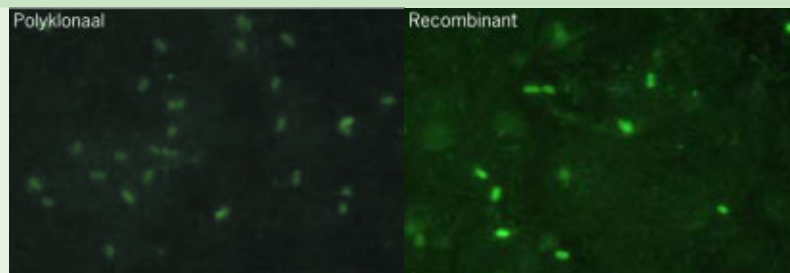
Onderzoek

- Ontwikkeling van procedures voor de selectie van specifieke fagen voor de herkenning van schimmelsporen.
- Ontwikkeling van een recombinant antilichaam voor de detectie van Tulp virus X.



Boven: Schema faag-display en selectie van recombinant antilichaam klonen.

Onder: Schema van de omkloning en expressie van recombinant antisera constructen.



Boven: Immuno-fluorescentie detectie van *Ralstonia solanacearum*. Het bestaat recombinant serum werk goed maar is beperkt houdbaar.

Onder: Sandwich ELISA met een recombinant antilichaam voor de detectie van Tulp virus X. Een verdunningsreeks van het virus in bladmateriaal en in buffer is getest. Daarnaast is ook een praktijkmonster getoetst. De detectiemethode geeft een zeer lage achtergrond en lage detectiegrens.

Resultaten

- Er is inzicht verkregen in de productie en houdbaarheid van bestaande recombinante antisera.
- Er zijn procedures ontwikkeld voor de selectie van specifieke fagen voor de herkenning van schimmelsporen.
- In een demonstratieproject is een recombinant antilichaam ontwikkeld voor de detectie van Tulp virus X. Hierbij is gebruik gemaakt van verbeterde technologie. Het gebruik van de juiste faag-bank en strategie is cruciaal voor goede recombinante antisera.

De praktijk

Faag-display biedt een alternatief voor de huidige productie van diagnostische antisera. Volgens een nieuwe strategie kunnen recombinante antisera met een constante en verbeterde kwaliteit worden geproduceerd. Het gebruik van proefdieren kan hiermee worden teruggedrongen. Daarnaast zal de gedefinieerde productie van antisera in toekomst van groot belang zijn bij de ISO-certificering van diagnostiek binnen keuringsdiensten, PD en andere laboratoria.