

Die Lyme Borreliose ist eine Infektionskrankheit, bei der der Labordiagnostik eine besondere Bedeutung zukommt. Dabei stützt sie sich im Wesentlichen auf serologische Nachweisverfahren, da der direkte Erregernachweis durch Mikroskopie, Anzucht oder PCR derzeit nur ungenügende Ergebnisse erbringt.

Ziel der Arbeit war die Generierung eines rekombinanten Immunoblots als Bestätigungstest einer erfolgten Infektion.

Dazu wurden einige sensitive und spezifische Proteine anhand der Literatur ausgesucht und in *Escherichia coli* rekombinant propagiert. Durch Sequenzierung der amplifizierten Abschnitte konnte der genaue Nachweis über die propagierte genetische Information erbracht werden. Durch Ligation dieser Teilstücke in pGex und Transfektion von *Escherichia coli* konnten diese Fusionsproteine rekombinant hergestellt und durch Affinitätschromatographie rückstandslos von den *Escherichia coli* Proteinen getrennt werden.

Um reproduzierbare Proteinkonzentrationen auf dem Immunoblot einstellen zu können, mussten die Proteinkonzentrationen der einzelnen Chargen photometrisch gemessen werden. Da das „Slotblotverfahren“ keine reliablen Testergebnisse lieferte, wurden die Immunoblots in der „Halbtrockentechnik“ hergestellt. Dazu wurden lediglich 8 der 22 propagierten Proteine verwendet, da durch die vorhergegangenen Sequenzanalysen und Vergleiche eine hohe Homologie der Abschnitte festgestellt worden war.

Die zur Evaluation des Immunoblots benötigten Proben wurden der Serenbank des Mikrobiologischen Institutes der Universität zu Hamburg entnommen.

Die Evaluation erfolgte in drei Schritten. Zunächst wurden positive und negative Seren im rekombinanten Blot einander gegenübergestellt. Es folgte der Vergleich des neuen Immunoblot mit dem herkömmlichen Testverfahren mittels Totallysat. Abschließend wurde versucht, anhand des nachzuweisenden Bandenmusters Rückschlüsse auf das Stadium der Erkrankung zu ziehen. Diese für die Klinik bedeutsamen Anwendungen erwiesen sich als möglich. So konnte ein aussagekräftiger neuer Immunoblot hergestellt werden.