

СРАВНЕНИЕ РАЗЛИЧНЫХ МЕТОДОВ ВЫДЕЛЕНИЯ МОНОКЛОНАЛЬНЫХ ИММУНОГЛОБУЛИНОВ

Никитина А.М. / Nikitina A.M.

ФКУЗ Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора, Волгоград,
Россия

Volgograd Research Antiplague Institute Federal Service for Surveillance on
Consumer Rights Protection and Human Well-Being, Volgograd, Russia

Новицкая И.В. / Novitskaya I.V.

Цель

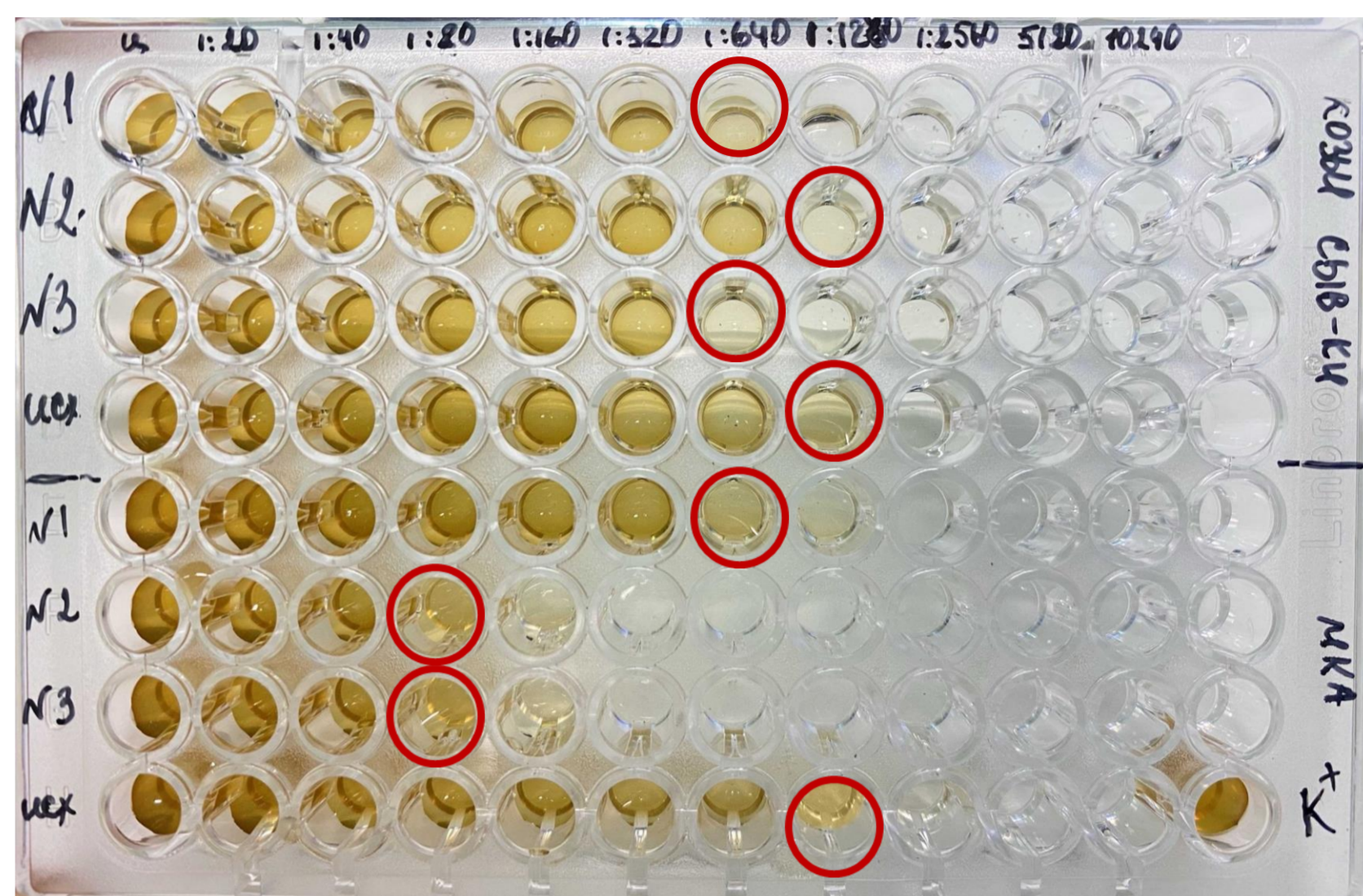
оценка эффективности различных химических методов, используемых для выделения из асцитических жидкостей мышинных мелиоидозных моноклональных антител.

Материалы и методы

Моноклональные антитела, отличающиеся моновалентностью и полной идентичностью, с целью сохранения их иммунобиологических свойств требуют наиболее щадящих методов очистки.

Для выделения моноклональных иммуноглобулинов из асцитической жидкости мышей *BALB/c* нами использованы: ПЭГ (М.в. 6500-7000), каприловая (октановая) кислота, а также насыщенный раствор сульфата аммония. МКА, принадлежащие IgG классу, были получены путем соматической гибридизации клеток (Köhler G., Milstein C., 1975) мышинной миеломной линии Sp2/0 Ag14, утративших способность синтезировать собственные иммуноглобулины, и спленоцитов мыши BALB/c, иммунизированной антигенным комплексом АГ8 (200 кДа) возбудителя мелиоидоза *B. pseudomallei* 100.

Для осаждения МКА отобрана проба с концентрацией белка (NanoPhotometr P-300) 34,5 мг/мл и специфической активностью в непрямом ИФА 1:1280.



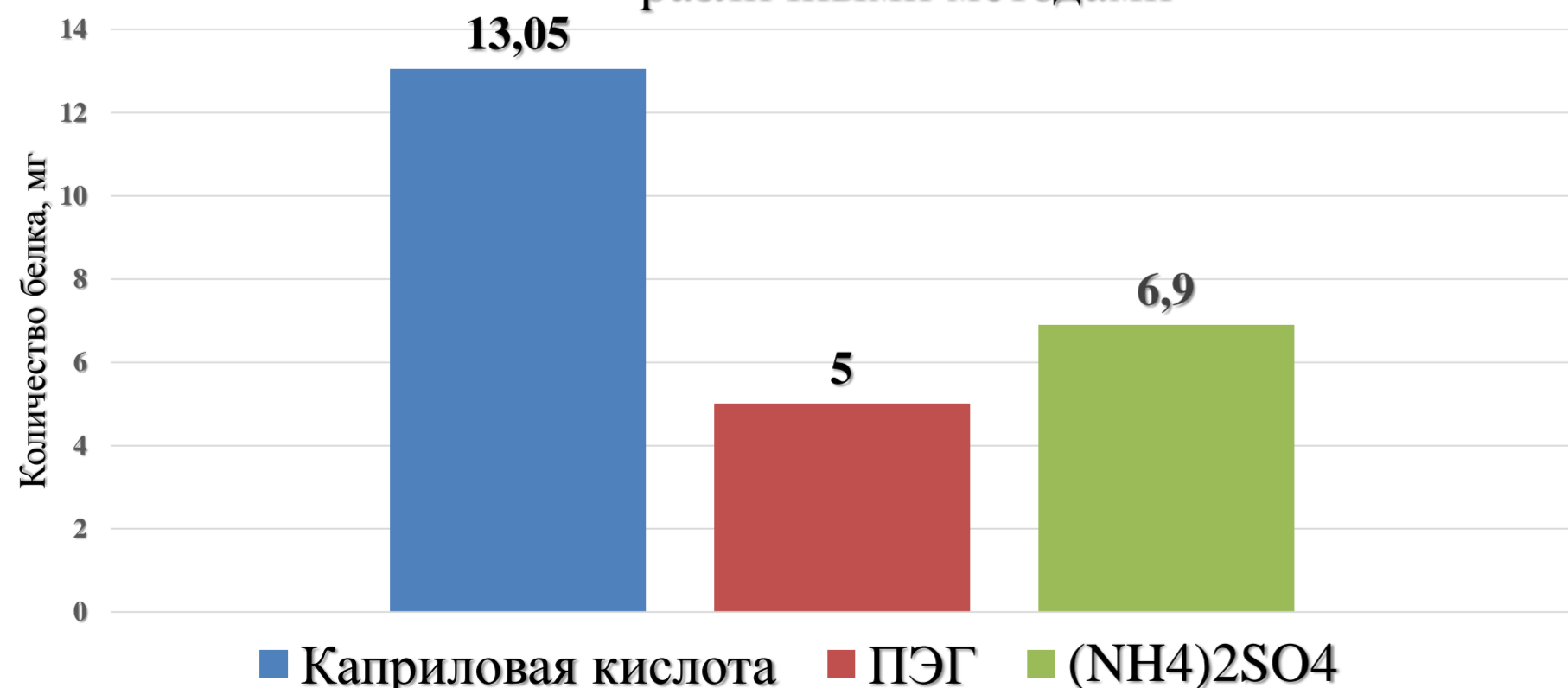
Специфическая активность поли-и моноклональных антител после осаждения с помощью $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (1), ПЭГ (2) и каприловой кислотой (3) в непрямом ИФА

Результаты

1. Продолжительность высаливания иммуноглобулинов методом двукратного осаждения насыщенным раствором сульфата аммония составила в зависимости от скорости диализа 5-7 дней, в отличие от использования ПЭГ или каприловой кислоты (2 дня).
2. Содержание общего белка в каприловой пробе по результатам спектрофотометрии оказалось достоверно выше по сравнению с образцами, выделенными с помощью сульфата аммония или ПЭГ.
3. Специфическая активность в непрямом ИФА с гомологичным антигеном МКА класса IgG, полученных методами осаждения как каприловой кислотой, так и ПЭГ, снизилась восьмикратно, в то время при использовании $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ уменьшилась лишь на одно разведение (рис. 1).
4. Сравнительное изучение этих же методов для выделения поликлональных иммуноглобулинов из козьих мелиоидозных сывороток показало их относительную равноценность.

	Исходные данные	Каприловая кислота	ПЭГ	$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$
Концентрация белка, мг/мл	34,25	2,9	2,5	4,6
Абсолютное количество белка в пробе, мг	68,5	13,05	5	6,9
Специфическая активность в непрямом ИФА	1/1280	1/80	1/80	1/640

Количество белка в пробах после осаждения различными методами



Выводы

Согласно полученным данным, наиболее предпочтительным для сохранения аналитических характеристик моноклональных иммуноглобулинов является метод их двукратного переосаждения насыщенным раствором сульфата аммония, который позволяет, несмотря на определенную продолжительность, в наибольшей степени сохранить иммуноглобулиновую фракцию пробы и ее активность.

