



INSTYTUT HODOWLI I AKLIMATYZACJI ROŚLIN
– PAŃSTWOWY INSTYTUT BADAWCZY
W RADZIKOWIE

Zakład Nasiennictwa i Ochrony Ziemiaka w Boninie

Nasiennictwo i ochrona ziemiaka

*48. konferencja
naukowo-szkoleniowa*



Dźwirzyno
13-15 maja 2015 r.

Bonin 2015

LITERATURA

1. Van der Wolf J. M., Elphinstone J. G., Stead D. E., Metzler M., Müller P., Hukkanen A., Karjalainen R. 2005. Epidemiology of *Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicus* in relation to control of bacterial ring rot. Plant Research International B.V., Wageningen: 3-21

LITERATURA

OCZYSZCZANIE PRZECIWCIAŁ KRÓLICZYCH METODĄ POWINOWACTWA

dr inż. Włodzimierz Przewodowski, mgr inż. Wioleta Stochła
IHAR-PIB, ZNiOZ w Boninie, Pracownia Diagnostyki Molekularnej i Biochemii
e-mail: wlodzimierz.przewodowski@tu.koszalin.pl

Preciwciała (immunoglobuliny), jako cząstki receptorowe mające zdolność specyficznego oddziaływania z innymi cząstkami – antygenami (np. bakteriami, wirusami, białkami itp.), odgrywają kluczową rolę w diagnostyce immunologicznej wykorzystującej zasadę immunopowinowactwa. Czułość i specyficzność metod immunologicznych zależy w głównej mierze od jakości, związanej z mianem i specyficznością stosowanych przeciwciał. Ze względu na specyficzność rozróżnia się dwa rodzaje przeciwciał – poli- i monoklonalne, które reagują odpowiednio z wieloma oraz jednym epitopem (fragmentem antygeny) na powierzchni antygeny. Stosując w diagnostyce przeciwciała poliklonalne, uzyskuje się zwykle większą czułość, ale mniejszą specyficzność, natomiast przeciwciała monoklonalne zapewniają przeważnie większą specyficzność oraz niższą niż poliklonalne czułość. Optymalnym rozwiązaniem byłoby zastosowanie czułych przeciwciał poliklonalnych, charakteryzujących się wysoką specyficznością przeciwciał monoklonalnych. Przeciwciała takie, stosowane w diagnostyce ważnych mikroorganizmów patogennych, pozwoliłyby uzyskać wysoką czułość metody, zachowując równocześnie wysoką specyficzność.

Dlatego też za cel pracy przyjęto opracowanie metodyki pozwalającej na podniesienie czułości i specyficzności poliklonalnych przeciwciał króliczych skierowanych na komórki sprawcy bakteriozy pierścieniowej ziemniaka – kwarantannowych bakterii *Clavibacter michiganensis* ssp. *sepedonicus*.

Chcąc poprawić jakość badanych przeciwciał IgG anty-Cms, zastosowano metodę chromatografii powinowactwa, wykorzystując wzajemne oddziaływanie immunoglobulin w stosunku do komórek bakterii Cms. W celu przeprowadzenia procesu chromatograficznego antygen (komórki bakteryjne oraz komponenty śluzu bakteryjnego) umieszczano poprzez kopolimeryzację w żelu poliakrylamidowym. Po inkubacji przeciwciał z badanym złożem i usunięciu niezwiązanych przeciwciał IgG związane w kompleksie antygen-przeciwciała uwalniano za pomocą odpowiednio dobranych buforów elucyjnych. Ilość otrzymanych przeciwciał oceniano na każdym z etapów testami BCA oraz spektrofotometrycznym przy $\lambda = 280$ nm, natomiast skuteczność wzbogacania miana i czystość wyznaczano elektroforetycznie oraz metodą DAS-ELISA.

Wyniki badań przedstawione w niniejszej pracy wskazują na użyteczność stosowanej metody chromatografii immunopowinowactwa w polepszeniu miana badanych przeciwciał w stosunku do tradycyjnie stosowanych metod oczyszczania.