

WPLYW SPOSOBU IZOLACJI PRZECIWCIAŁ KRÓLICZYCH NA ICH JAKOŚĆ

*mgr inż. Wioleta Stochła, dr inż. Agnieszka Przewodowska
dr inż. Włodzimierz Przewodowski*

*IHAR – PIB, Pracownia Diagnostyki Molekularnej i Biochemii w Boninie
e-mail: wlodzimierz.przewodowski@tu.koszalin.pl*

Przeciwciała jako cząsteczki receptorowe są często wykorzystywane w metodach diagnostycznych do wykrywania różnych bakteryjnych i wirusowych patogenów roślin i zwierząt. Do jednych z najczęściej stosowanych przeciwciał należą poliklonalne królicze immunoglobuliny G (IgG). Jakość, w głównej mierze miano i czystość tych przeciwciał, zależy nie tylko od jakości zawierających je surowic, lecz również od sposobu izolacji przeciwciał. Do izolacji przeciwciał króliczych stosuje się różne techniki izolacji pozwalające uzyskać słabiej bądź lepiej oczyszczony materiał. W tym celu stosuje się zarówno pojedyncze metody izolacji, jak i techniki oczyszczania bazujące na jednoczesnym wykorzystaniu kilku różnych metod izolacji.

Celem pracy było opracowanie warunków i porównanie różnych sposobów izolacji przeciwciał z surowicy krwi króliczej, obejmujących m.in. strącanie białek z surowicy przez dodanie stężonego roztworu soli oraz oczyszczanie przeciwciał metodą preparatywną z zastosowaniem chromatografii jonowymiennej i chromatografii powinowactwa.

Do badań wykorzystano surowicę z krwi królika immunizowanego bakteriami atakującymi tkankę ziemniaka. Jako metodę pozwalającą wstępnie oczyścić i wydzielić białka (w tym badane IgG) z surowicy krwi stosowano wysokie stężenie roztworu siarczanu amonu. W następnym etapie uzyskane białka poddawano rozdzielowi techniką chromatografii jonowymiennej, stosując jako złożę DEAE celulozę. W innej ze stosowanych metod przeciwciała przy wysokim stężeniu soli nanoszono na kolumnę wypełnioną złożem tiofilnym. W obu przypadkach przeciwciała wiązały się do złożów, natomiast inne białka obecne w surowicy wypływały z kolumny. Po zmianie warunków buforowych z kolumny wymywano oczyszczone przeciwciała.

Uzyskane wyniki wskazują na różną przydatność stosowanych technik izolacji IgG, które w obu przypadkach pozwoliły na uzyskanie przeciwciał aktywnych biologicznie. Korzystniejsza okazała się jednak metoda z zastosowaniem dodatnio naładowanego złoża, charakteryzująca się wyższą czystością uzyskanych immunoglobulin G, natomiast sam proces oczyszczania oceniono jako mniej czaso- i pracochłonny.