

УДК 619:615.375

**Получение моноспецифических антисывороток  
к иммуноглобулинам различных классов**

**Букас Л. Н.** *Витебская государственная академия ветеринарной  
медицины*

Чувствительность и специфичность иммунологических методов во многом зависит от качества иммунных сывороток, которое в свою очередь определяется чистотой используемых антигенов и схемой иммунизации лабораторных животных.

Имунохимический метод определения иммуноглобулинов классов G. M и A, основанный на использовании соответствующих антисывороток широко применяется при анализе биологических жидкостей (сыворотки крови, молозива и т. д.) как у здоровых животных, так и при различных патологических состояниях.

В нашей работе для выделения отдельных классов иммуноглобулинов с целью использования их в качестве антигенов за основу был взят метод получения иммуноглобулинов, предложенный А. М. Жав-

ненко и А. Ф. Могиленко (1984 г.).

Принцип его заключается в последовательной обработке сыворотки крови, полученной от клинически здоровых животных сульфатом натрия и полиэтиленгликолем (ПЭГом) с молекулярной массой 6000 Да с дальнейшей очисткой полученных иммуноглобулиновых фракций препаративным электрофорезом в агаровом геле.

Первоначальное осаждение иммуноглобулиновых фракций мы проводили сульфатом натрия при температуре 37°С и непрерывном перемешивании. Смесь центрифугировали 5 мин. при 8000 об/мин. и осадок растворяли в 0,15 М растворе хлорида натрия. В результате трехкратного переосаждения сульфатом натрия был получен первичный концентрат иммуноглобулиновых фракций, очищенный от значительной части белков сыворотки крови.

Дальнейшую очистку иммуноглобулинов с разделением их на классы проводили дифференцированным осаждением ПЭГом - 6000 путем добавления его к концентрату до определенного процента насыщения и препаративным электрофорезом в агаровом геле (рН 8,9, ионная сила 0,1).

Выделенные и очищенные таким образом иммуноглобулины клас-

сов G, M и A проверялись на чистоту методом иммуноэлектрофореза. Каждый препарат иммуноглобулинов при иммуноэлектрофорезе с поливалентной антисывороткой к белкам сыворотки крови крупного рогатого скота давал только одну характерную линию преципитации. При этом содержание белков в полученных препаратах составило: для иммуноглобулинов класса G - 14,5 г/л, для иммуноглобулинов классов M и A - 3,3 г/л и 0,9 г/л соответственно. Полученные иммуноглобулины использовали в качестве антигенов для иммунизации кроликов.

До настоящего времени методы получения иммунных сывороток во многом остаются эмпирическими и поиски наиболее эффективных схем продолжаются постоянно. Нами при получении моноспецифических иммунных сывороток к иммуноглобулинам классов G, M и A была использована комбинация различных путей введения антигена (подкожно с применением адьюванта Фрейнда, субконъюнктивально, внутривенно). Антиген, введенный подкожно с адьювантом, всасывается более медленно и в организме образуется его депо. При многократном субконъюнктивальном введении антигена развивается местная реакция без побочных осложнений воспалительной реакцией, а дополнение схемы иммунизации внутривенным введением антигена способствует быстрому поступлению его в кровяное русло, что приводит к генерализации иммунного ответа и, как следствие, резкому увеличению антител.

Схема иммунизации, используемая нами для получения иммуноглобулиновых антисывороток была следующей: кроликам массой 2,5-3 кг в первый день иммунизации подкожно в 2-3 точки вводили антиген с адьювантом Фрейнда в дозе 0,1 мл для иммуноглобулинов класса G и 0,2 и 0,3 мл для иммуноглобулинов классов M и A. Начиная с третьего дня после первого введения 3 дня подряд субконъюнктивально вводили по 0,1 мл антигена и после трехдневного перерыва еще 3 дня подряд в дозе 0,2 мл антигена на одно животное. Через 3 дня после субконъюнктивального введения антиген инъецировали внутривенно в дозе 0,3 мл каждого кролика двукратно с интервалом один день. Через 10 дней после последней инъекции брали кровь из ушной вены и определяли титр сыворотки крови в реакции двойной диффузии в геле по Ухтерлони. Для антисыворотки к иммуноглобулинам класса G он составлял 1:32, класса M - 1:8, класса A - 1:16.