

В результате проведенной оценки аминокислотного профиля очищенного микобактериального экстракта, вариант № 1 было выявлено повышенное содержание лизина, аспарагиновой кислоты, валина, глутаминовой кислоты, но сниженное содержание глицина, изолейцина, тирозина, фенилаланина, при сопоставлении с аминокислотным составом микобактериальным экстрактом без предшествующей очистки на мембранах.

Изучение аминокислотного состава очищенного микобактериального экстракта варианта №2 продемонстрировано повышение содержания лизина, аспарагиновой кислоты, метионина, лейцина, тирозина, но сниженной концентрацией аргинина, серина, глицина, изолейцина, при сопоставлении с аминокислотным составом микобактериальным экстрактом без предшествующей очистки на мембранах.

Также в отношении исследованных вариантов микобактериальных экстрактов выявлено повышенное содержание аспарагиновой кислоты, глутаминовой кислоты, лейцина (более 10 %). Результаты оценки аминокислотного профиля будут использованы при разработке состава питательных сред, используемые для культивирования микобактерий

Заключение. Изучен аминокислотный профиль очищенных микобактериальных экстрактов. Показано, что аминокислотный профиль очищенных микобактериальных экстрактов характеризуется повышенным содержанием аспарагиновой кислоты, глутаминовой кислоты и лейцина.

Литература. 1. Зверева, М. Н. Медицинская микробиология, вирусология и иммунология: учебник. В 2 т. / М. Н. Зверева, М. Н. Бойченко. – Москва : ГОЭТАР-Медиа, 2016. - Т.1. – 448 с. 2. Хронические инфекции животных. Туберкулез / А. Х. Найманов, Е. П. Вангели, Ю.М. Мясоедов [и др.]. – Москва : Спутник +, 2022. - 320 с.

УДК 543.544.153: 577.112.825

ПОЛУЧЕНИЕ ИММУНОГЛОБУЛИНОВ МЕЧЕНЫХ ФИТЦ МЕТОДОМ ГЕЛЬ-ХРОМАТОГРАФИИ

Новикова Н.Н., Бармина К.А.

ФГБНУ «Омский аграрный научный центр», г. Омск, Российская Федерация

*В статье представлены данные по определению временных параметров подготовки гель-хроматографической колонки Сефадекс G-50 для получения иммуноглобулинов меченых ФИТЦ. Определили, что эффективнее набухание геля происходит за 44 часа, чем за 24 часа при этом средняя скорость прохождения меченых ФИТЦ иммуноглобулинов составила 5,45 см/ч и 3,81 см/ч соответственно. В течение этого времени происходит полное набухание геля, что позволяет увеличить скорость элюирования на 1,64 см/ч и сократить время на 3 часа. **Ключевые слова:** сефадекс G-50, элюат, элюент, скорость элюирования, иммуноглобулины, гель-хроматография.*

OBTAINING FITZ-LABELLED IMMUNOGLOBULINS BY GEL CHROMATOGRAPHY

Novikova N.N., Barmina K.A.

Omsk Agrarian Scientific Center, Omsk, Russian Federation

*The article presents data on determining the time parameters for preparing a Sephadex G-50 gel chromatography column to obtain FITC-labeled immunoglobulins. It was determined that the gel swells more effectively in 44 hours than in 24 hours, with the average rate of passage of FITC-labeled immunoglobulins being 5,45 cm/h and 3,81 cm/h, respectively. During this time, the gel swells completely, which allows increasing the elution rate by 1,64 cm/h and reducing the time by 3 hours. **Keywords:** Sephadex G-50, eluate, eluent, elution rate, immunoglobulins, gel chromatography.*

Введение. Для получения иммуноглобулинов, меченных ФИТЦ, и их последующего применения в реакции иммунофлуоресценции, необходима очистка от избыточного красителя. Данный процесс осуществляется методом гель-хроматографии с использованием Сефадекса G-50. Следует отметить, что эффективность данного метода фракционирования, основанного на различии размеров и формы молекул, может быть модифицирована в зависимости от pH используемого элюента [1].

В контексте изучения фульвокислот, В.Г. Мамонтов и А.И. Филатова (2016) применяли Сефадекс G-50, используя дистиллированную воду с нейтральным pH в качестве растворителя и элюента [2]. В то же время, исследования И.С. Сироткиной с соавторами (1973) указывают на тенденцию к увеличению высокомолекулярного максимума и сокращению времени удерживания образцов при смещении pH элюента в щелочную область [3].

Е.Д. Лодыгин (2012), исследуя препараты фульвокислот с pH, приближенным к щелочному, оценивал эффективность Сефадекса G-25 и G-100 при скорости элюирования 3 см³/ч. Использовались различные элюенты, включая дистиллированную воду, 0,05 М раствор NaOH и Tris-HCl-буфер (pH 8,2). Однако, эти гели оказались неэффективными. Исходя из этого, а также учитывая другие факторы, для достижения необходимого фракционирования было рекомендовано использовать гели других марок, в частности G-50 и G-75, в сочетании с элюентами, имеющими среду, близкую к нейтральной [4, 5].

Таким образом, гель-фильтрация на Сефадексе G-50 является одним из ключевых этапов в процессе получения иммуноглобулинов, меченных ФИТЦ, для реакции иммунофлуоресценции [6].

Цель исследования – определение временных параметров подготовки гель-хроматографической колонки для получения иммуноглобулинов меченых ФИТЦ.

Материалы и методы исследований. Гель-хроматографирование растворов иммуноглобулинов, меченных ФИТЦ, не очищенных от красителя, проводили на геле сефадекс G-50 [7]. Для исследования использовали лабораторную стеклянную колонку объемом 30x300 мм со стеклянным песком в качестве дополнительного фильтра. Элюентом послужил 0,1 М фосфатный буферный раствор pH 7,5, который получали при смешивании однозамещенного $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ и двухзамещенного Na_2HPO_4 с дистиллированной водой.

Порошкообразный гель (6 г) замачивали в дистиллированной воде на разное время: первый на 20 часов, второй на 44 часа. В каждую колонку заливали по 6,5

мл геля, предварительно пропуская дистиллированную воду через бумажный фильтр, который находится на дне песчаного сердечника колонки. После заполнения 2-3 см раствором фосфатного буфера и сам гель. После его осаждения в течение часа, колонки наполняли раствором глобулинов меченных ФИТЦ в объеме 15 мл. Высота колонок с гелем составляла 35 см.

Результаты исследований. По результатам фильтрования, после вливания растворов глобулинов, меченных ФИТЦ, через 20 минут в первой колонке было пройденное расстояние 2,5 см, а во второй – 4 см (рисунок). Таким образом, скорость элюирования 10,5 см/ч и 12 см/ч соответственно. По прошествии 1,5 часов, уровень элюата с глобулинами находился ниже на 11 см, во второй на 18 см, что говорит о снижении скорости в первой колонке на 3,2 см/ч. Через 2 часа скорость элюирования снизилась в первой колонке и составляла 1,85 см/ч, а во второй 3 см/ч, уменьшение скорости могло быть вызвано уплотнением сефадекса и его осаждением на бумажный фильтр. По истечению 3 часов столбик прохождения первой колонки составлял – 25,7 см, второй – 39,5 см. На данном этапе фракционирование раствора и его очистка уже достигла краника второй колонки. Через 4 часа в первой колонке наблюдается увеличение величины на 7,3 см, второй – 12 см. а через 5 часа еще на 7 см и 11,7 см соответственно. По прошествии 5 часов хроматографии раствор глобулинов в первой колонке дошел до песчаного фильтра, что заметно позже, чем во второй. После 6 часов фильтрации раствора иммуноглобулинов во второй колонке, который спустился еще на 11,9 см, получили готовый элюат, а в первой колонке раствор спустился на 7,5 см, при этом гель-фильтрация продолжается.

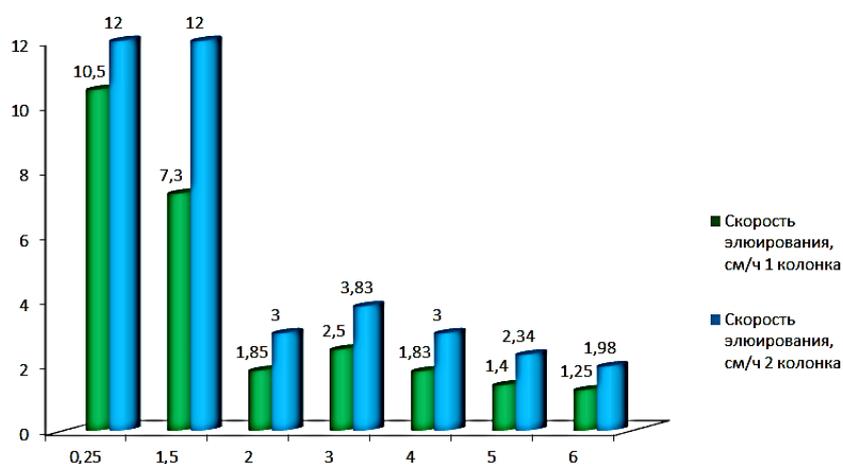


Рисунок – Скорость гель-фильтрации иммуноглобулинов меченых ФИТЦ

Таким образом, средняя скорость элюирования во второй колонке составляет 5,45 см/ч, а в первой 3,81 см/ч. За 6 часов раствор прошел очистку полностью во второй колонке, нежели в первой, которой потребовалось еще 3 часа, так как скорость элюирования снизилась из-за набухания геля, что препятствовало прохождению элюата.

Заключение. Обобщая все данные, мы пришли к выводу, что сефадекс G-50 для гель-фильтрации необходимо подготавливать к работе 44 часа. В течение этого времени происходит полное набухание геля, что позволяет увеличить скорость элюирования на 1,64 см/ч и сократить время на 3 часа.

Литература. 1. Авторское свидетельство SU 639570, МПК B01J 20/281. Сорбент для гель-хроматографии: заявл. 07.09.1976 : опубл. 30.12.1978 / Е. А. Фетисов. – 2 с. 2. Мамонтов, В. Г. Молекулярно-массовый состав фульвокислот городских почв / В. Г. Мамонтов, А. И. Филатова // Известия Тимирязевской сельскохозяйственной академии. – 2016. – № 2. – С. 5-11. 3. Сироткина, И. С. Хроматографическое разделение органических веществ речных вод на сефадексах / И. С. Сироткина, Н. С. Загудаева, Г. М. Варшал // Гидрохим. мат.– 1973. – Т. 27. – С. 153-163. 4. Лодыгин, Е. Д. Изучение полидисперсности гумусовых веществ методом гель-хроматографии / Е. Д. Лодыгин, В. А. Безносиков, Р. С. Василевич // Доклады Российской академии сельскохозяйственных наук. – 2012. – № 4. – С. 24-27. 5. Стасевич, О. В. Применение гель-хроматографии для получения обогащенных фракций лигнана диглюкозида секоизоларицирезинола / О. В. Стасевич, С. Г. Михаленок // Труды Белорусского государственного технологического университета. Серия 4. Химия и технология органических веществ. – 2008. – Т. 1, № 4. – С. 34-37. 6. Новикова, Н. Н. Прямая реакция иммунофлюоресценции для диагностики лейкоза крупного рогатого скота / Н. Н. Новикова, В. С. Власенко, Е. А. Вишневский // Ветеринария. - 2024. - № 6. - С. 17-21. 7. Применение прямого метода реакции иммунофлюоресценции для диагностики лейкоза крупного рогатого скота: методические рекомендации / Н. Н. Новикова, В. С. Власенко, Е. А. Вишневский, К. А. Бармина. – Омск : ФГБНУ «Омский АНЦ», 2024. - 20 с.

УДК 636.086.5:636.087.7-546.72

ОБОГАЩЕНИЕ СЕМЯН ГОРОХА СУЛЬФАТОМ ЖЕЛЕЗА

Новикова Н.Н., Косарева Н.А.

ФГБНУ «Омский аграрный научный центр», г. Омск, Российская Федерация

В статье представлены данные по обогащению семян гороха Омской селекции сульфатом железа в разных концентрациях. Растворы готовили непосредственно перед погружением в отдельных сосудах, в 3-х вариантах (0,25 г/л, 0,4 г/л, 0,1 г/л) и 7-и повторностях. В результате получили данные, что количество микроэлемента повышается при проращивании в растворе сульфата железа 0,25 г/л. Данная концентрация позволяет максимально накопить его в зернах гороха при этом сохранить сырой протеин и сахар.
Ключевые слова: горох, биодоступность, железо, сырой протеин, сахар

ENRICHMENT OF PEA SEEDS WITH FERROUS SULFATE

Novikova N.N., Kosareva N.A.

Omsk Agrarian Scientific Center, Omsk, Russian Federation

The article presents data on enrichment of pea seeds of Omsk selection with ferrous sulfate in different concentrations. Solutions were prepared immediately before immersion in separate vessels, in 3 variants (0,25 g / l, 0,4 g / l, 0,1 g / l) and 7 repetitions. As a result, we obtained data that the amount of microelement increases