خلاصه مقاله

مقدمه: تعداد قابل توجهی از مقالات منتشر شده استفاده از آنزیم برای تولید قطعات از مولکول IgG را بیان می کنند. آنتی بادی و قطعات آنتی بادی اغلب به شکل نشان دار شده استفاده می شود.تولید قطعات خالص شده یک گام مهم در توسعه تحقیقات پزشکی، تشخیص و درمان و به نفع خود کفایی کشور است.

مواد و روش ها: برای تولید آنتی بادی پلی کلونال خرگوشی، آنتی ژن در چهار مرحله به خرگوش تزریق شد.سرم خرگوش جمع آوری شد و با آمونیوم سولفات ٪۵۰ رسوب داده شد.در همه مراحل غلظت پروتئین به وسیله اسپکتروفتومتری در طول موج ۲۸۰ نانومتر اندازه گیری گردید. IgG خرگوشی به وسیله کروماتوگرافی تعویض یونی روی ستون سفاروز DEAE خالص سازی شد و برای نمایان شدن آنتی بادی خالص شده روی ژل، ژل با کوماسی بلو رنگ آمیزی گردید. IgG خرگوش با آنزیم پپسین هضم شد، محلول شامل قطعه آنتی بادی برای خالص سازی $F(ab')_2$ از دیگر قطعات تولید شده، به ستون ژل فیلتراسیون G100 اضافه شد. برای تعیین خلوص قطعه $F(ab')_2$، SDS-PAGE در شرایط غیر احیا انجام شد. قطعه $F(ab')_2$ با FITC کونژوگه شد و فعالیت آن به روش فلوسایتومتری با نمونه استاندارد مقایسه گردید.

یافته ها: سرم خرگوش در تیتر ۱/۱۲۸۰۰۰ بیشترین جذب را در واکنش با IgG انسانی در تست الایزای طراحی شده، نشان داد. در SDS-PAGE نمونه حاصل از کروماتوگرافی تعویض یونی، در شرایط غیر احیا فقط یک باند در محدوده وزن مولکولی KD ۱۵۰ ، و در شرایط احیا دو باند در موقعیت وزن مولکولی ۵۰ , ۲۵ مشاهده شد. این نتیجه خلوص بالای ٪۹۵ را نشان داد. همچنین SDS-PAGE برای تعیین خلوص قطعه $F(ab')_2$ در شرایط غیر احیا انجام شد که در آن یک باند در ناحیه ۱۰۰ مربوط به قطعه $F(ab')_2$ مشاهده گردید.

نتیجه گیری: مقایسه قطعه $F(ab')_2$ کونژوگه شده و نمونه خارجی نشان داد که قطعه تولیدی با کیفیت مشابه با نمونه خارجی عمل میکند.

واژهای کلیدی: قطعه $F(ab')_2$; آنتی بادی پلی کلونال;هضم پپسینی; کونژوگه کردن با FITC ; ایمونیزاسیون