تخلیص ساب کلاس IgG2a موش و تهیه آنتی بادی پلی کلونال کونژوگه علیه آن در خرگوش

زهرا مرادی-دکتر جعفر مجیدی – دکترتوحید کاظمی

گروه ایمونولوژی- دانشکده پزشکی- دانشگاه علوم پزشکی تبریز

چکیده فارسی

مقدمه: اهداف این طرح تخلیص IgG2a موش و تولید و تخلیص آنتی بادی پلی کلونال کونژوگه با آنزیم علیه IgG2a می باشد.

مواد و روش ها: بعد از رسوب ایمونوگلوبولینها، کروماتوگرافی تعویض یونی وافینیتی کروماتوگرافی با ProG و ProA برای تخلیص IgG و IgG2a انجام شد. در تمام مراحل روش تایید خلوص آنتی بادی تخلیص شده الکتروفورز (SDS-PAGE) بود . برای تولید آنتی بادی پلی کلونال علیه IgG2a موش ، خرگوش با آنتی بادی تخلیص شده ایمونیزه شد. بعد از تزریق نهایی، برای اطمینان از تولید آنتی بادی در بدن خرگوش , ELISA انجام شد و تیتر دقیق آنتی بادی تولیدی با الایزا تعیین شد. سرم خرگوش جمع آوری و با آمونیوم سولفات ۵۰٪ رسوب داده شده وتحت کروماتوگرافی تعویض یونی تخلیص شد وآنتی بادی تخلیص شده با آنزیم پراکسیداز کونژوگه شد. تیتر و کراس ری اکتیویتی آنتی بادی پلی کلونال با ELISA اندازه گیری شد.

نتایج: غلظت پروتئین سرم موشی mg/ml ۴۰ (حجم:۳سی‌سی) بود که بعد از رسوب آنتی‌بادی‌ها،۳ سی‌سی محلول ایمونوگلوبولینی با غلظت mg/ml ۳۴ حاصل شد. نتایج SDS-PAGE در حالت احیا دو باند در موقعیت ۵۰KDa و۲۵ KDa و در حالت غیر احیا یک باند در موقعیت ۱۵۰ کیلو دالتون بود. محصول تخلیص با روش ProG ، ۷ میلی‌گرم IgG2a موشی ، که تقریباً ۱۹٪ از مقدار اولیه است. محصول تخلیص با روش Ion exchange و ProA ، ۸میلی‌گرم ، که به ترتیب ۲۱٪ و ۳۰ از مقدار اولیه است. تیتر آنتی‌بادی پلی کلونال

تولیدشده ۲۰۰۰۰۰ تعیین شد . تیتر آنتی‌بادی پلی کلونال ۴۰۰۰ بود و این آنتی‌بادی با سایر ساب کلاسهای موشی غیر از IgG2b کراس ری اکتیویتی کمی داشت.

بحث: این مطالعه نشان داد که کروماتوگرافی تعویض یونی و به دنبال آن افینیتی کروماتوگرافی مناسب‌ترین روش برای تخلیص ساب کلاسهای IgG موشی علی‌الخصوص برای اهدافی مانند ایمونیزاسیون می‌باشد. محصول تولیدشده دارای ارزش اقتصادی و علمی بالایی است و تولید آن گامی به‌سوی خودکفایی کشور است.

کلیدواژه‌ها: افینیتی کروماتوگرافی، کروماتوگرافی تعویض یونی، پروتئینA ، پروتئین G، آنتی‌بادی پلی کلونال