

Е.В. Аринушкиной [4].

Результаты. На серии стандартных растворов оксалат-иона с концентрацией 5,0 мг/л экспериментально установлено время их удерживания, составляющее $16,85 \pm 0,10$ мин.

Для устранения мешающего влияния солевой матрицы почвы и селективного выделения хроматографического пика оксалат-иона определена оптимальная величина удельной электрической проводимости исследуемого раствора 200 мкСм/см при соответствующей кратности разбавления фильтрата водной вытяжки.

Концентрация оксалат-иона определяется методом градуировочного графика. Диапазон определяемых концентраций оксалат-иона составляет 0,05–50 мг/кг.

На рисунке представлена хроматограмма водной вытяжки из почв.

Таким образом, экспериментально установлены условия определения водорастворимых оксалат-ионов в почвах методом ионной хроматографии в диапазоне от 0,05 до 50 мг/кг.

Список литература

1. Лисицкая И.Г. Контроль качества и экологической безопасности почв и урбаноземов / Лисицкая И.Г., Петухов В.И. // Горн. инф.-анал. бюл., 2013.– 266 с.
2. ПНД Ф 16.1:2.2.3:2.2.69-10 Определение водорастворимых форм неорганических и органических анионов в почвах, грунтах, глинах, донных отложениях.– СПб.: Люмекс, 2011.– 21 с.
3. Юсенко Е.В. // Сорбционные и хроматографические процессы, 2013.– Т.13.– №3.– С.369–376.

Антитела яичного желтка как перспективные иммунохимические реагенты

Т.С. Турова, Е.А. Колосова

Научный руководитель – к.б.н. Д.Н. Щербаков

Алтайский государственный университет

656049, Россия, Барнаул, пр. Ленина, 61, kurchanovaea@gmail.com

IgY-технологии – это технологии, основанные на использовании птичьих желточных антител. Впервые описал феномен передачи специфических антител против столбнячного токсина из сыворотки иммунизированных кур в яичный желток Феликс Клемперер в 1893 году [1].

Антитела из желтка птиц обладают рядом характеристик, делающих их привлекательным объектом для получения и использования в

иммунохимии:

- 1) Большая продуктивность (от одной курицы IgY 30–40 г в год);
- 2) Простота отбора IgY (сбор яиц вместо забора крови);
- 3) Малое количество антигена для иммунизации;
- 4) IgY не обладает пресекающей активности с другими иммуноглобулинами, что облегчает проведение иммунохимических тестов с этим антителом [2].

Несмотря на десятилетия использования IgY для иммунохимических тестов и налаженное производство этих антител в странах Европы и США, в России отсутствует научный и технологический задел в этой области. Для организации производства необходимо разработать дешевый и простой метод выделения антител из желтка яиц. Более того, совершенствование методов в последние годы может предложить новые подходы, которые позволят удешевить и упростить алгоритмы получения препаратов этих антител.

Различные методы выделения IgY были рассмотрены у De Meulenaer и Huyghebaert [3], и могут быть разделены на три основные группы:

- 1) Осадительные методы (осаждение сульфатом натрия или полиэтиленгликолем);
- 2) Хроматографические методы (гельпроникающая хроматография и др.);
- 3) Ультрафильтрация.

В последние годы, метод осаждения полиэтиленгликолем Полсона стал наиболее эффективным и часто используемым [4]. В то же время он не лишен недостатков.

Нами был предложен следующий алгоритм. Желток, предварительно очищенный от белка фильтровальной бумагой, гомогенизировали с дистиллированной водой в соотношении 1 : 15. Полученный раствор желтка доводили до pH=5 и замораживали в течение 12 ч при -20°C . После раствор размораживали при комнатной температуре. Последующее разделение водных и липидных частей проводили простой фильтрацией.

В супернатант добавляли хлорид натрия 8,8% массы на объем. После полного растворения осадителя раствор доводили до pH=4 и оставляли на 2 ч.

Выпавший осадок отделяли центрифугированием в течение 15 мин при 4°C при 6000 об./мин. Осадок IgY растворялся в 3 мл PBS (Na-фосфатный буфер) и диализировался в течение ночи против PBS в объеме

1 л. Утром раствор заменяли на свежий и диализировали еще в течение 3 ч.

Концентрацию белка рассчитывали в соответствии с законом Ламберта-Бера (коэффициентом молярной экстинкции 1,36). Измерение оптической плотности препарата проводилось на спектрофотометре Agilent Technologys Cary 60 UV-VIS при 280 нм.

Выход составил в среднем 50 мг с яйца.

Контрольное выделение IgY проводили методом Полсона. Выход составил 40 мг с яйца.

Для оценки сохранения биологической активности выделанных препаратов IgY, проведен иммуноферментный анализ. Проведена раститровка коммерческого Anti-Chicken конъюгата производства Sigma, меченного пероксидазой хрена, в диапазоне от 1 : 1000 до 1 : 80000. Было показано, что оба препарата сохранили биологическую активность.

Таким образом, была предложена схема выделения антител IgY из желтка кур. Предложенный метод позволяет выделять большие по сравнению с методом Полсона количества антител с сохранением их биологической активности.

Список литературы

1. Klemperer, F. Ueber natürliche Immunität und ihre Verwerthung für die Immunisierungstherapie. *Archiv für Experimentelle Pathologie und Pharmakologie* 31, 356–382.
2. Schade, R. & Hlinak, A. Egg yolk antibodies, state of the art and future prospects. *ALTEX* 13, Suppl. 1, 5–9.
3. De Meulenaer, B. & Huyghebaert, A. Isolation and purification of chicken egg yolk immunoglobulins: a review. *Food and Agricultural Immunology* 13, 275–288.
4. Polson, A., von Wechmar, M.B. & van Regenmortel, M.H.V. Isolation of viral IgY antibodies from yolks of immunized hens. *Immunological Communications* 9, 475–493.