

Изучение иммунного ответа крыс на введение иммуноглобулинов класса G кролика и свиньи

А.Г. Берзина¹, Н.Б. Гамалея¹, Н.В. Петрова²

¹ – ФГБУ «Национальный Научный центр наркологии» Минздрава РФ, Москва

² – ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий ФМБА России», Московская обл.

В мировой практике при получении антиидиотипических антител против опасных антигенов в основном используются моноклональные антитела, полученные методом гибридомной технологии на мышах. Помимо этой технологии существует возможность получения поликлональных антиидиотипических антител, используя гетерологичные антисыворотки, т.е. сыворотки от разных видов лабораторных животных. При этом необходимо учитывать степень иммунного ответа на вводимый антиген, представляющий собой иммуноглобулин G другого вида животного. Иммунный ответ может зависеть от степени серологического родства животных. Было показано серологическое родство между иммуноглобулинами класса G человека, свиньи и крысы и отсутствие родства между иммуноглобулинами класса G крысы, кролика и лошади.

Цель настоящего исследования – оценка выраженности иммунного ответа на введение крысам серологически родственного иммуноглобулина класса G (от свиньи) и неродственного IgG (от кролика).

Материалы и методы. Крысы линии Wistar были иммунизированы IgG свиньи (8 животных) и IgG кролика (8 животных) сходным образом. Животным вводили подкожно в 2-3 точки вдоль хребта 3 раза с интервалом в 2 недели антигены в дозе 0,025 мг на крысу. При первой инъекции антигены, растворенные в 0,5 мл физиологического раствора, смешивали с равным объемом полного адьюванта Фрейнда. При двух последующих инъекциях антигены смешивали с равным объемом неполного адьюванта Фрейнда. Через 7 дней от последней инъекции осуществляли внутривенное введение (в хвостовую вену) такой же дозы антигена, растворенного в 50 мкл физ. раствора. Забор крови (объем 0,5 мл) проводили на 7-й день после последней инъекции антигенов из бедренной вены. Антивидовые антитела в сыворотках крови крыс определяли в «непрямом» ИФА, при котором на твердой фазе сорбировали

IgG свиньи или кролика в раститровке. На следующем этапе в лунки планшета вносили антисыворотки крыс, иммунизированных соответственно IgG свиньи или кролика, а на последнем этапе в лунки вносили антитела к IgG крысы, меченные пероксидазой хрена, коммерческого производства (Sigma). За титр сыворотки принимали конечное ее разведение, при котором оптическая плотность в ИФА превышала фон в 2 раза.

Результаты и обсуждение. Оказалось, что при иммунизации крыс свинным иммуноглобулином G среднегеометрический титр антивидовых антител составил $1:10765$, $\log_2$ титра антител $13,39 \pm 0,89$ (среднее $\pm$ стандартное отклонение). При иммунизации крыс кроличьим иммуноглобулином G по такой же схеме среднегеометрический титр оказался выше и составил $1:76121$ ($\log_2$ титра антител $16,22 \pm 0,89$), различие статистически значимо ($P=0,000$ по критерию Стьюдента; $P<0,06$ по непараметрическому критерию Манна-Уитни). Надо отметить, что при подобной постановке анализа, когда в качестве антигена на твердой фазе используется иммуноглобулин вида животного, серологически родственного виду иммунизированного животного, может наблюдаться высокое значение неспецифической реакции. А именно: когда на твердой фазе сорбирован IgG свиньи, он реагирует с антикрысиным пероксидазным конъюгатом. В этом случае необходимо вычитать из значений оптической плотности для сывороток иммунных крыс значения фона, полученные в реакции с сывороткой неиммунной крысы.

Выводы. Полученные результаты наглядно показывают, что чем меньше серологическое родство иммунизируемых животных и животного-продуцента антигена (иммуноглобулина класса G), тем более высокие титры антител можно получить при прочих равных условиях. При получении антивидовых антисывороток необходимо учитывать серологическое родство иммунизируемых животных для правильной интерпретации результатов ИФА.