

УДК 616.98:578.825.11]-07-092.4

А.А.Степанова (5 курс, каф. БФ), И.А.Иванова, к.б.н., с.н.с.

УДАЛЕНИЕ НЕСПЕЦИФИЧЕСКОГО СВЯЗЫВАНИЯ В ИФА ТЕСТ-СИСТЕМЕ

В сыворотках людей, как здоровых, так и больных присутствует большое количество низкоаффинных полиспецифических иммуноглобулинов, особенно класса М, способных слабо реагировать как с ауто-, так и с чужеродными антигенами. В модельных экспериментах показано, что мощная поликлональная неспецифическая активация В-клеток, имеющая собственную динамику, отличную от специфической, есть общее свойство многих вирусных инфекций [1]. Кроме того, присутствие в крови определяемых количества ревматоидного фактора, т.е. антител класса М против Fc-фрагмента Ig G, есть общее свойство вирусных инфекций [2].

Работа проводилась на основе исследований диагностической ИФ тест-системы к иммуноглобулинам класса М и G к вирусу простого герпеса человека.

В работе были поставлены следующие задачи:

1. Определить причину наблюдаемого перекрестного реагирования.
2. Добиться возможности дифференциальной диагностики.

I. На первом этапе была проверена специфичность конъюгата пероксидазы и МКА против Ig M человека. Для этого в планшеты внесли коммерческий высокоочищенный иммуноглобулин класса G в различной концентрации, и обработали конъюгатами на основе МКА к Ig G и к Ig M человека.

Перекрестное реагирование практически полностью отсутствует даже при высоких концентрациях Ig G на подложке. Таким образом, перекрестное реагирование, которое мы наблюдали в экспериментах с сыворотками от больных обусловлено, по-видимому, присутствием полиспецифических низкоаффинных антител и антител класса M к Ig G.

II. Для удаления неспецифического связывания было предложено использовать неионные детергенты. Были исследованы тритон X-100 и нонидет Р-40. Постановка ИФ тест-систем содержащих детергенты и без них показала целесообразность добавления неионных детергентов в исследуемые сыворотки.

III. Было проведено сравнительное исследование ИФ тест-систем с добавлением тритона X-100 и с добавлением нонидета Р-40. Оба детергента препятствуют связыванию низкоаффинных антител, однако наиболее выраженное уменьшение величины оптической плотности у отрицательных сывороток наблюдали при использовании нонидета Р-40, который снимает до 70% неспецифического связывания, в отличие от тритона X-100 (до 45%).

Выводы:

1. Исследованы возможные причины неспецифического реагирования антигерпетических иммуноглобулинов классов М и G в ИФА. Ими оказались неспецифические низкоаффинные ауто-антитела, содержание которых резко возрастает при вирусной инфекции, а так же перекрестно-реагирующие антитела классов М и G, выполняющие регуляторную роль.
2. Перекрестное реагирование было значительно снижено с помощью неионных детергентов. Сравнительный анализ показал преимущество нонидета Р-40.

ЛИТЕРАТУРА:

1. M.Y. Sangster, D.J. Topham. The journal of immunology, 2000, 164: 1820-1828.
2. A.Bukh, B.S.Thomsen. J. Clin. Lab. Immunol. №6, 1988 , pp 195-200.