

Қазақстан Республикасы
Білім және ғылым
Министрлігі

Ахмет Байтұрсынов
атындағы
Қостанай мемлекеттік
университеті



Министерство образования
и науки Республики
Казахстан

Костанайский
государственный
университет имени
Ахмета Байтурсынова

Байтұрсынов оқулары

ХАЛЫҚАРАЛЫҚ ҒЫЛЫМИ-ПРАКТИКАЛЫҚ КОНФЕРЕНЦИЯ
МАТЕРИАЛДАРЫ

Байтурсыновские Чтения

МАТЕРИАЛЫ МЕЖДУНАРОДНОЙ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКОЙ
КОНФЕРЕНЦИИ

Baitursynov readings

INTERNATIONAL SCIENTIFIC AND RESEARCH CONFERENCE
CONTENT



3-інші бөлім

Сәуір, 2016

МАЗМҰНЫ – СОДЕРЖАНИЕ

МЕНДЫБАЕВА А.М. МЕНДЫБАЕВА А.М. БЕРМУХАМЕТОВ Ж.Ж. РЫЩАНОВА Р.М.	ПЫТ ПОЛУЧЕНИЯ ИММУННОЙ СЫВОРОТКИ К КОНЬЮГАТУ ТРЕНБОЛОН-BSA.....	197
МОГИЛИНА Т.Н.	СОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ ПРОИЗВОДСТВА КРУПЯНЫХ ИЗДЕЛИЙ.....	200
МОЛДАШОВА Ж. Б. МОЛДАХМЕТОВА З.Қ.	КҮНБАҒЫС ШЕМІШКЕСІНІҢ БИОЛОГИЯЛЫҚ ЖӘНЕ ТАҒАМДЫҚ ҚҰНДЫЛЫҒЫ.....	203
НАЗАРБЕКОВА Ә.Б. ЕСИМХАНОВ С.Б.	К ПРИМЕНЕНИЮ ТЕОРИИ ИССЛЕДОВАНИЯ КОМПЛЕКСНЫХ КЛИМАТИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ.....	205
НИГМАТОВА Ж.Б. СУЛЕЙМАНОВА К.У.	ГЕЛЬМИНТОЗЫ РЫБ И МЕТОДЫ ИХ ИССЛЕДОВАНИЙ.....	208
ОВЧИННИКОВА К.П. ШИЛОВ М.П.	ВЛИЯНИЕ ТЕХНОЛОГИЙ ОБРАБОТКИ ЧЕРНОЗЕМОВ ОБЫКНОВЕННЫХ НА ДИФФЕРЕНЦИАЦИЮ ПАХОТНОГО СЛОЯ В УСЛОВИЯХ СЕВЕРНОГО КАЗАХСТАНА.....	212
РУДИК Е.А. КЛОЧКО Л.В.	ВЛИЯНИЕ ГЕРБИЦИДОВ НА АКТИВНОСТЬ ПЕРОКСИДАЗЫ ПРОРОСТКОВ ПШЕНИЦЫ.....	216
СЕЛЕУОВА Л.А. МУСЛИМОВ Б.М. БРЕЛЬ-КИСЕЛЕВА И.М.	АРЕАЛ РАСПРОСТРАНЕНИЯ МУГАЛЖАРСКОЙ ПОРОДЫ ЛОШАДЕЙ В РЕСПУБЛИКЕ КАЗАХСТАН.....	220
ГРАЖИНА Я. ВИТАУТАС Я. КУЛЯЙ С. САУЛЮС П. ЕУГЕНИУС Я.	РАСПРОСТРАНЕНИЕ SARCOCYSTIS В ТУШАХ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА, СВИНЕЙ И МЯСНОЙ ПРОДУКЦИИ, РЕАЛИЗУЕМОЙ НА РЫНКАХ.....	223
СУРАГАНОВ Е.Н. ТЕМИРБЕКОВ Ж.Т. ХАМИТОВА Г.Ж.	ҚОСМЕКЕНДІЛЕРДІҢ ЗЕРТТЕЛУ ТАРИХЫНА ҚЫСҚАША ШОЛУ.....	227
ТӨЛЕУБАЕВ Ж. ЗИЯЕВА Г. АЛТЫНСАРИЕВ А. ҚАЗАҚБАЕВ Қ. ЕРАЛИЕВ С.	АЗЫҚ- ТҮЛІК ҚАУІПСІЗДІГІН ҚАМТАМАССЫЗ ЕТҮДІҢ АГРОЭКОЛОГИЯЛЫҚ НЕГІЗДЕРІ.....	231
IZZET AKCA NAZLI DIDE KUTLUK YILMAZ ISLAM SARUNAN	DETERMINING THE PROBABLE INSECT VECTORS OF APPLE MOSAIC VIRUS (APMV) INFECTING HAZELNUT PRODUCTION AREAS IN TURKEY.....	236
УМАРОВ А.Б. КРАВЧЕНКО А.В. БЕРМУХАМЕДОВ Ж.Ж. РЫЩАНОВА Р.М. КУЛАКОВА Л.С.	СИНТЕЗ ИММУНОГЕНОВ СТЕРОИДНЫХ ГОРМОНОВ ЭСТРАДИОЛА 17В И ТРЕНБОЛОНА АЦЕТАТА С ВЫСОКОМОЛЕКУЛЯРНЫМИ НОСИТЕЛЯМИ.....	241
УТЕТЛЕУОВА Д.А. ЖАБЫҚПАЕВА А.Г. РЫЩАНОВА Р.М. КУЛАКОВА Л.С.	ПРИМЕНЕНИЕ АНАЛЬГЕЗИРУЮЩЕГО ПРЕПАРАТА У СВИНЕЙ ПРИ БОЛЯХ РАЗЛИЧНОЙ ЭТИОЛОГИИ.....	244
УШАКОВ Ю.А. ИСИНТАЕВ Т.И. ХАСЕНОВ Н.С.	ТЕХНОЛОГИЯ ОТБОРА ДОЗ МОЛОЗИВА ДЛЯ КОРМЛЕНИЯ ТЕЛЯТ.....	248
ХАДАНОВИЧ А.В. КЕХТЕР И.В.	ПРИМЕНЕНИЕ СЕМЯН ЛЬНА В ПРОИЗВОДСТВЕ ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТОВ.....	248

области, специалисты районных филиалов ГУ республиканского методического центра фитосанитарной диагностики и прогнозов и просто жители города и области.

Литература:

- 1 <http://www.guslik.ru/thysanoptera/semeystvo-mertvoedy-silphidae.html>
- 2 Николаев Г.В. Пластинчатоусые жуки Казахстана и Средней Азии. – А-А: Наука, 1987. – С.139-140,170-171.
- 3 Мариненко Т.Г., Мамедова Т.М. Энтомологический музей КГУ, его обучающее и научное значение//Музеи евразийских университетов в поддержке и развитии общего образовательного пространства: Материалы Международной научно-методической конференции (Томск, 26-29 сентября 2012г.) /Под ред. Э.И. Черняка.- Томск: изд-во Том.ун-та, 2013. – С.81-90.
- 4 Мариненко Т.Г., Мамедова Т.М. Музей имени Проценко. – Костанай: КГУ им.А.Байтурсынова, 2014. – 71с., ил.

УДК: 619:57.083.3:577.17-035.5

ОПЫТ ПОЛУЧЕНИЯ ИММУННОЙ СЫВОРОТКИ К КОНЪЮГАТУ ТРЕНБОЛОН-BSA

Мендыбаева А.М. – магистрант, Костанайский государственный университет им. А. Байтурсынова

Кравченко А.В. – докторант, Костанайский государственный университет им. А. Байтурсынова

Бермухаметов Ж.Ж. – магистр технических наук, преподаватель, Костанайский государственный университет им. А. Байтурсынова

Рыщанова Р.М. – к.в.н., доцент, Костанайский государственный университет им. А. Байтурсынова

В статье приведены результаты получения специфических иммунных сывороток к тренболону конъюгированному бычьим сывороточным альбумином. Проведена иммунизация двух групп кроликов с использованием различных схем. Отработана оптимальная схема иммунизации позволяющая получать иммунные сыворотки с высоким титром.

Ключевые слова: гормон тренболон, гаптен, иммуноглобулины, иммуноферментный анализ.

Иммунологические методы, в основе которых лежит высокоспецифичное взаимодействие антител с антигенами, нашли широкое распространение не только в ветеринарии и медицине, но и в тех научных и прикладных исследованиях, где требуется индикация любых биоорганических субстанций - вирусов, бактерии, клеток, белков, гормонов, лекарств и других биологически активных веществ. [1]

Препараты крови человека или животных, содержащие антитела; используются для диагностики, лечения и профилактики различных заболеваний. Иммунные сыворотки получают от иммунизированных животных и людей, а также от лиц, перенесших инфекционную болезнь, в крови которых содержатся соответствующие антитела [2]. В зависимости от применения различают диагностические и лечебно-профилактические сыворотки. Диагностические иммунные сыворотки применяют в различных иммунологических реакциях для установления вида, подвида или серотипа возбудителя инфекционной болезни, определения различных антигенов в биологических материалах. В зависимости от характера иммунологических реакций различают агглютинирующие, преципитирующие, флюоресцирующие, гемолитические, меченные радиоактивными нуклидами, ферментами и другие диагностические сыворотки [3].

Иммунные сыворотки, содержащие специфичные иммуноглобулины, получают путем гипериммунизации животных специфическим антигеном с последующим, в период максимального антителообразования, выделением из крови иммунной сыворотки. Для образования антител в организме иммунизированного животного антигены должны обладать иммуногенностью. Иммуногенность веществ сильно зависит от их молекулярной массы: чем выше молекулярная масса, тем выше иммуногенность. Отсюда вытекает важное практическое следствие - сшивка биополимеров между собой и другими белками повышает иммуногенность. Зависимость иммуногенности от молекулярной массы, по-видимому, определяется следующими причинами: во-первых, увеличение времени пребывания антигена в организме при возрастании его молекулярной массы; во-вторых, у высокомолекулярных анти-

генов существенно возрастает способность взаимодействовать с макрофагами, в-третьих, с увеличением молекулярной массы в антигене увеличивается как общее количество антигенных детерминант, так и их разнообразие, что повышает эффективность взаимодействия антигенов как с В-, так и с Т-лимфоцитами [4].

Для получения специфической иммунной сыворотки с высоким титром необходимо использовать для иммунизации животных филогенетически далекого вида, это связано с тем, что чем больше различий и, следовательно, эпитопов, тем больше продукция антител. Из лабораторных животных чаще всего берут для иммунизации кроликов из-за доступности животного, подходящего размера, легкости взятия крови, относительно длительного срока жизни. В связи с этим, мы в своих опытах использовали данный вид животного [5, 6].

Целью наших исследований явилось получение специфических антител к тренболону конъюгированному бычьим сывороточным альбумином.

Работа выполнена в иммунобиологической лаборатории Инновационного научно-образовательного центра Костанайского государственного университета имени А. Байтурсынова.

Материалы и методы исследований

При проведении исследований применялись физико-химические, серологические, иммунохимические методы.

Для проведения экспериментов были подобраны по принципу аналогов 2 группы кроликов (3-4 кг по 3 особи в группе), которым инъецировали препарат Trenbolone-BSA. Разработали две схемы иммунизации: краткосрочная иммунизация составляла 14 дней - 1 опытная группа и долгосрочная иммунизация 49 дней - 2 опытная группа. Препарат Trenbolone-BSA вводили в дозе 0,5 мл на голову с концентрацией антигена 0,2 мг/мл, подкожно в область спины в несколько точек с последующей ре-иммунизацией. В качестве адъюванта использовали полный и неполный адъювант Фрейнда в соотношении 1:1. На 4-ый день при краткосрочной схеме и на 7-ой день при долгосрочной иммунизации, после последнего введения антигена проводили взятие крови для тестирования сывороток методом иммуноферментного анализа (ИФА) и реакции иммунной диффузии (РИД). В процессе иммунизации из краевой вены уха кроликов отбирали небольшие пробы крови для оценки количества антител. Для отрицательного контроля перед началом иммунизации у кроликов отбирали кровь. Для изучения иммунохимических свойств специфических антител брали кровь в объеме 20-25 мл непосредственно из сердца путем кардиальной пункции.

Для постановки непрямого твердофазного ИФА ячейки 96-луночного планшета сенсебилизировали конъюгатом тренболонна с гетерологичным носителем в концентрации 5 мкг/мл при температуре 4°C в течение ночи. С целью удаления не связавшегося антигена планшет отмывали 3 раза фосфатно-солевым буфером с содержанием 0,5% твина-20 (ФСБ-ТВ). После этого вносили полученную иммунную сыворотку и инкубировали в термостате при температуре 37°C в течение 60 минут. После инкубирования планшет отмывали описанным способом для удаления неспецифических антител. Затем в лунки планшета вносили антивидовые антитела, меченные пероксидазой хрена (антивидовой конъюгат) в объеме 100 мкл и инкубировали при 37°C в течение 60 минут. Повторяли процедуру отмывки для удаления не связавшихся продуктов реакции и вносили по 100 мкл раствора субстрата фермента (однокомпонентный раствор тетраметилбензидина – ТМБ) и инкубировали планшет в течение 15 минут в темном месте при комнатной температуре. Положительная реакция характеризовалась окрашиванием раствора субстрата в голубой цвет. Реакцию останавливали добавлением в лунки планшета стоп-реагента (раствора 5% серной кислоты). Результаты ИФА учитывали с помощью спектрофотометра с вертикальным потоком света при длине волны 450 нм [7].

При проведении реакции иммунной диффузии на поверхность обезжиренных чашек Петри заливали расплавленную 1%-ную агарозу толщиной слоя 2-3 мм. После застывания агара специальным штампом-пробойником вырезали лунки диаметром 5-6 мм. В центральную лунку вносили антиген – TR-BSA в концентрации 10 мкг/мл, а в остальные лунки вносили сыворотку крови иммунизированного кролика в разведениях: 1/2, 1/4, 1/8, 1/16, 1/32, 1/64. Затем инкубировали в течение суток во влажной камере при комнатной температуре. Учет реакции проводили по образовавшимся линиям преципитации [8].

Результаты исследований

Тестирование иммунной сыворотки крови опытных животных приведены в таблице 1.

Таблица 1 - Результаты тестирования сыворотки крови кроликов

Метод исследования	Конъюгат TR-BSA	
	Краткосрочная схема иммунизации – 1 группа	Долгосрочная схема иммунизации – 2 группа
ИФА	1: 600	1:3200
РИД	1:2	1:4

Тестирование сыворотки крови опытных групп кроликов методом ИФА показало, что при долгосрочной иммунизации рабочий титр антител был выше по сравнению с краткосрочной. В РИД специфичность антител составляла при краткосрочной схеме 1:2 и долгосрочной иммунизации 1:4.

Для последующих исследований использовали сыворотку кроликов 2-ой опытной группы с наиболее высоким титром антител.

Через 60 дней провели повторную иммунизацию кроликов 2-ой группы (с долгосрочной схемой). Для реиммунизации разработали новую схему, которая составляла 14 дней. Препарат Trenbolone-BSA вводили в дозе 0,5 мл на голову с концентрацией антигена 0,2 мг/мл, подкожно в область спины в несколько точек. В качестве адъюванта использовали неполный адъювант Фрейнда. На 4-ый день после последнего введения антигена проводили взятие крови для тестирования сывороток методом ИФА и РИД. Полученные результаты представлены в таблице 2.

Таблица 2 - Результаты тестирования сывороток крови кроликов после реиммунизации

Конъюгат TR-BSA	
Метод исследования	Реиммунизация – 2 группа
ИФА	1:6400
РИД	1:8

Исходя из данных таблицы 2 можно сделать вывод, что препарат TR-BSA использовавшийся при иммунизации обладает достаточной антигенностью и вызывает выработку антител к тренболону в разведениях ИФА – 1:6400, РИД – 1:8.

Заключение

Таким образом, тестирование показало, что использованный в качестве конъюгата тренболон-BSA обладает необходимым уровнем иммуногенности. Максимальный уровень иммунного ответа на введение конъюгата тренболон-BSA достигался при повторной иммунизации. Титры антител к антигенным детерминантам тренболон-BSA при этом находились в пределах 1:6400 в ИФА и 1:8 в РИД.

В результате иммунизации кроликов препаратом TR-BSA была проведена отработка схем иммунизации животных. При этом наиболее высокий титр антител по отношению к тренболону, показали пробы сывороток крови взятых от кроликов иммунизированных по долгосрочной схеме иммунизации.

Литература:

- 1 Ковалев И.Е., Полевая О.Ю. Биохимические основы иммунитета к низкомолекулярным соединениям. М 1985.
- 2 Д.Кэти Антитела. Методы. М., Мир, 1991.
- 3 Воронин Е.С "Биотехнология", изд. ЗАО ГИОРД, 2005 г.
- 4 Бутенко Р.Г. и др. Клеточная инженерия. серия Биотехнология №3/ М.: «Высшая школа», 2001.
- 5 А. Ройт, Дж. Брюсстофф, Д. Мейл. Иммунология- М.: Мир, 2000 — ISBN 5-03-003362-9 Иммунология в 3 томах / Под. ред. У. Пола.- М.:Мир, 1988
- 6 Goding J. Antibody production by hybridoma //J. Immunol. Meth. – 2009. - Vol. 39, № 1. - P. 285-308.
- 7 Егоров А.М., Осипов А.П., Дзантиев Б.Б., Гаврилова Е.М. Теория и практика иммуноферментного анализа. М. 1991.
- 8 Ouchterlony O. Diffusion – in gel methods for immunological analysis// Prog. Allergy. – 1958. – V. 5. – P. 1-78.