



СОЮЗ СОВЕТСКИХ
СОЦИАЛИСТИЧЕСКИХ
РЕСПУБЛИК

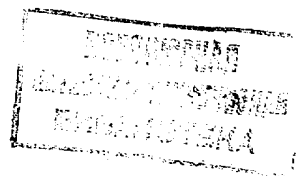
(19) SU (11) 1642399 A1

(51)5 G 01 N 33/53. A 61 K 39/29

ГОСУДАРСТВЕННЫЙ КОМИТЕТ
ПО ИЗОБРЕТЕНИЯМ И ОТКРЫТИЯМ
ПРИ ГКНТ СССР

ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

К АВТОРСКОМУ СВИДЕТЕЛЬСТВУ



1

(21) 4626700/13

(22) 27.12.88

(46) 15.04.91. Бюл. № 14

(71) Институт органического синтеза
АН ЛатвССР

(72) В.В. Цибиногин и В.Я. Лосева

(53) 576.8.094.29 (088.8)

(56) Roggendor T.M. et al. Compari son of hepatitis B core antigens deruled from human liver or Inthesized in Escherichia coli and evaluation of fheir use in Diagnostic assays for anti-HBc Ig M. - V. Virol. Meth. 1983, p. 61-70.

Hashe G. Use of hepatitis B core antigen produced in Escgherichia Coli to detect immunoglobulin M, specific antibodies on an Enziyme-linked immunosorbent assay. - Eur. J. Clin. Microbiol., 1984, № 3, p. 30-34.

(54) СПОСОБ ОПРЕДЕЛЕНИЯ АНТИТЕЛ КЛАССА Ig M К КОР-АНТИГЕНУ ВИРУСА ГЕПАТИТА В

(57) Изобретение относится к медицинской биотехнологии, связано с генной инже-

2

ней и касается диагностики вирусного гепатита В. С целью упрощения способа на твердую фазу сорбируют антитела к Ig M человека, вносят исследуемые образцы сыворотки или плазмы, при этом содержащиеся в них Ig M связывают с сорбированными антителами. После инкубации и отмывки добавляют меченый антиген, который взаимодействует со связанными специфическими Ig M. Повышение сигнала по сравнению с отрицательным контролем свидетельствует о наличии в образце антител класса Ig M. Кор-антиген высокой степени чистоты получают из лизата рекомбинантного штамма клеток E. coli. Антиген метят радиоактивной меткой, ферментом, хелатным комплексом европия или другой меткой, используемой в высокочувствительных иммунологических реакциях. Твердой фазой служат шарики, лунки или пробирки, изготавливаемые из полистирола, полихлорвинила или другого материала, используемого в иммунологических реакциях.

Изобретение относится к медицинской биотехнологии, в частности к генной инженерии, и может быть использовано для диагностики вирусного гепатита В.

Цель изобретения - упрощение способа.

На твердую фазу сорбируют антитела к Ig M человека, затем вносят исследуемые образцы сыворотки или плазмы, при этом содержащиеся в них Ig M связываются с сорбированными антителами. После инкубации и отмывки добавляют меченый антиген, который взаимодействует со связанными

специфическими Ig M. Повышение сигнала по сравнению с отрицательным контролем свидетельствует о наличии в образце анти-НВс класса Ig M.

Согласно предлагаемому способу в качестве меченого компонента используют меченый кор-антиген, который взаимодействует с антителами класса Ig M, предварительно связанными с сорбированными на твердой фазе антителами к Ig M человека.

НВс Ag высокой степени чистоты получают из лизата рекомбинантного штамма клеток E. coli.

(19) SU (11) 1642399 A1

НВс Ag метят радиоактивной меткой, ферментом, хелатным комплексом европия или любой другой меткой, используемой в высокочувствительных иммунологических реакциях.

Твердой фазой служат шарики, лунки или пробирки, изготавливаемые из полистирола, полихлорвинила или другого материала, используемого в иммунологических реакциях на стадии сорбции первого слоя.

Изобретение позволяет упростить процесс определения антител класса Ig M к кор-антигену вируса гепатита В. При этом чувствительность метода не снижается. Кроме того, исключается необходимость использования крови человека.

Пример. Определение анти-НВс класса Ig M в радиоиммунологической реакции.

На твердую фазу сорбируют антитела против тяжелых цепей Ig M человека в концентрации 10 мкг/мл в объеме 0,1 мл в 0,05 М карбонат-бикарбонатном буфере, pH 9,5, в течение 16-18 ч при +4°C. После трехкратной отмывки дистиллированной водой в лунки вносят разведения испытуемых человеческих сывороток 1:10², 1:10³ и т. д. до

1:10⁶ по 0,1 мл в 0,4 М Na-фосфатном буфере, pH 7,2-7,4, содержащем 0,15 М хлорида натрия, 0,1% тритона X-100 и 0,1% бычьего сывороточного альбумина. После инкубации в течение 1-2 ч при +37°C лунки отмывают 5-6 раз дистиллированной водой и вносят раствор меченного ¹²⁵I НВс Ag в том же фосфатном буфере. После инкубации с антигеном 1-2 ч при +37°C следует отмывка 5-6 раз. Затем лунки вырезают и определяют их радиоактивность в γ-счетчике. Результаты, полученные по известному и предлагаемому способам, совпадают, т. е. чувствительность обоих методов не отличается.

Формула изобретения

Способ определения антител класса Ig M к кор-антигену вируса гепатита В, включающий проведение на твердой фазе иммунологической реакции между антителом и антигеном с использованием меченого компонента, отличающийся тем, что, с целью упрощения способа, в качестве меченого компонента используют кор-антиген, а антитела класса Ig M из испытуемых образцов связывают с сорбированными на твердой фазе антителами к Ig M человека.

Редактор А.Огар

Составитель И.Тареева
Техред М.Моргентал

Корректор В.Гирняк

Заказ 1145

Тираж 425

Подписное

ВНИИПИ Государственного комитета по изобретениям и открытиям при ГКНТ СССР
113035, Москва, Ж-35, Раушская наб., 4/5

Производственно-издательский комбинат "Патент", г. Ужгород, ул. Гагарина, 101