



نانوبیوتکنولوژی در کشاورزی

ساخت و ارزیابی کیت اندازه‌گیری ایمونوگلوبولین G با استفاده از نانوذرات پارامغناطیسی اکسید آهن

جواد امینی، حمیدرضا رحمانی، محسن دانش مسگران، ندا نصیرزاده

دانشجوی دکتری گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد

دانشیار گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان

استاد گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد

دانش‌آموخته کارشناسی ارشد گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد

javad_amini@alumni.iut.ac.ir

به منظور ساخت کیت اندازه‌گیری ایمونوگلوبولین G نانوذرات پارامغناطیسی اکسید آهن (SPIO) ۲۰ میکرومتری (Nanomag-D-SPIO) با عامل واکنشگر -COOH در سطح، برای کونژوگاسیون با آنتی‌بادی پلی‌کلونال ضد IgG گاوی استفاده شد. محلول پیوندگر با افزودن ۱-اتیل-۳-(۳-دی‌متیل‌آمینوپروپیل) کربودی‌ایمید (EDC، ۲۶ میلی‌مولار) و n-هیدروکسی سوکسینیمید (NHS، ۱۰ میلی‌مولار) به بافر ۰/۱ مولار ۲-(N-مورفولینو) اتان سولفونیک اسید (MES) با pH برابر ۸/۳ تهیه شد. سپس محلول حاصل به نانوذرات با غلظت ۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر افزوده و به مدت ۲ ساعت در دمای اتاق انکوبه شد. سپس با ۲ بار افزودن PBS (pH=۷/۴) و سانتریفیوژ مخلوط، نانوذرات اکتیو شده، شستشو شدند. آنگاه یک میلی‌لیتر از آنتی‌بادی (با غلظت ۱ میلی‌گرم در میلی‌لیتر) به نانوذرات اکتیو اضافه و به مدت ۳ ساعت تکان داده شد سپس به منظور توقف واکنش به مدت ۳۰ دقیقه با افزودن گلیسین، انکوباسیون ادامه یافت. آنتی‌بادی کونژوگه نشده، با ستون آهن‌ربایی MACS از مخلوط جدا شد و مقدار آنتی‌بادی متصل به نانوذرات به روش بردفورد تخمین زده شد. کونژوگه حاصل در روش ELISA به کار گرفته شد و پس از اتصال به آنتی‌ژن موجود در نمونه‌ها (سرم و آغوز گاو) و انجام مراحل شستشو برای حذف آنتی‌بادی متصل نشده به آنتی‌ژن، محلول HCl ۶ مولار حاوی ۱ درصد H_2O_2 ، به چاهک‌ها اضافه شد؛ تحت این شرایط آهن متصل به کمپلکس آنتی‌بادی-آنتی‌ژن حل شده و به شکل اکسیده‌ی فریک (Fe III) درمی‌آید. با افزودن پتاسیم تیوسیانید ۵ درصد به محلول، Fe III با تیوسیانید، کمپلکس قرمز رنگی تشکیل داد. میزان جذب نوری نمونه‌ها در طول موج ۴۸۰ نانومتر قرائت شد. با مقایسه آماری نتایج این روش با روش ELISA ساندویچ متداول، دقت و تکرارپذیری، یکسان بود، ولی به عنوان روشی سریع‌تر می‌تواند مورد توجه قرار گیرد.

نانوذره اکسید آهن، ایمونوگلوبولین G، بیوکونژوگاسیون، ELISA