



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **118063** (13) **U**
(51) МПК

A61K 36/73 (2006.01)

G01N 33/53 (2006.01)

МІНІСТЕРСТВО
ЕКОНОМІЧНОГО
РОЗВИТКУ І ТОРГІВЛІ
УКРАЇНИ

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: u 2016 13361	(72) Винахідник(и): Поспелов Сергій Вікторович (UA), Джан Тетяна Віталіївна (UA), Клименко Світлана Валентинівна (UA)
(22) Дата подання заявки: 26.12.2016	
(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель: 25.07.2017	(73) Власник(и): ПОЛТАВСЬКА ДЕРЖАВНА АГРАРНА АКАДЕМІЯ, вул. Сковороди, 1/3, м. Полтава, 36003 (UA)
(46) Публікація відомостей про видачу патенту: 25.07.2017, Бюл.№ 14	

(54) СПОСІБ ВИЗНАЧЕННЯ ГЕМАГЛЮТИНУЮЧОЇ АКТИВНОСТІ ЛЕКТИНІВ ХЕНОМЕЛЕСУ (CHAENOMELES)

(57) Реферат:

Спосіб визначення гемаглютинуючої активності лектинів хеномелесу (Chaenomeles) шляхом екстракції рослинного матеріалу 0,05 н HCl у співвідношенні 1:20, фільтрування, концентрації білків та постановки реакції аглютинації у імунологічних планшетах у буферних системах. При цьому визначення проводиться при рН буферної системи 7,0-7,5.

UA 118063 U

Корисна модель належить до галузі біології та медицини, а конкретно до способів визначення активності лектинів і можливості застосування для вивчення фізіологічних процесів, які відбуваються в клітинах, а також імунології.

Відомі способи визначення активності лектинів шляхом екстракції 0,2 М NaCl у співвідношенні наважки до екстрагента 1:20 [Биохимический метод оценки ярового ячменя на устойчивость к фузариозной и гельминтоспориозной инфекции. / В.Г. Адамовская, А.А. Личневский, О.О. Молодченкова [и др.] // 56. наук. пр. СП. – Одеса. - 2002. - Вып. 42. - С. 83-88] або 0,9 %-ним розчином NaCl, водою або фосфатними чи ацетатними буферними розчинами (рН 6,0-7,8) [Антонюк В.О. Лектины та їх сировинні джерела. / В.О. Антонюк. - Львів: Кварта, 2005. - С. 108-124] з подальшою оцінкою гемаглютинуючої активності еритроцитів крові людини.

Відомий спосіб визначення активності лектинів, коли екстракцію здійснюють розчином 0,05 н HCl [Тимофеева О.А. Лектины клеточной стенки в адаптивных реакциях озимой пшеницы. / О.А. Тимофеева, Ю.Ю. Невмержицкая, И.Г. Мифтахова [и др.] // Растения и стресс: всерос. симпозиум: тезисы докл., 9-12 нояб. 2010. - М. - 419 с.], а в подальшому визначають гемаглютинуючу активність за умов рН фізіологічного розчину.

Незважаючи на ефективність відомих способів, гемаглютинуюча активність не завжди відповідає дійсним показникам, що обумовлено тим, що під час визначення активності не враховується рН активність білків.

В основу корисної моделі поставлена задача підвищення чутливості реакції та точності визначення гемаглютинуючої активності лектинів хеномелесу.

Поставлена задача вирішується за рахунок того, що визначення гемаглютинуючої активності проводиться при рН буферної системи 7,0-7,5.

В результаті досліджень авторами було встановлено, що лектини хеномелесу (*Chaenomeles japonica*) мають високу активність, яка змінюється залежно від рН середовища. Тому при проведенні реакції гемаглютинації необхідно враховувати вказані властивості і за допомогою буферної системи створювати оптимальні умови, при яких активність буде максимальною.

Дані таблиці підтверджують, що вибраний нами рН діапазон визначення активності лектинів є оптимальним для усіх сортів, що досліджувалися. Якщо при рН 4,0-6,5 та 8,0 активність не перевищувала 15,4 одиниць, то при рН 7,0-7,5 вона становила в середньому по сортах 18,7-20,9 одиниць.

При визначенні активності з використанням фізіологічного розчину (за прототипом) вона становила у середньому по сортах 12,8 одиниць, що на 5,9-8,1 одиниць менше порівняно в розробленим способом, що підтверджує підвищення точності визначення.

Таблиця

Залежність гемаглютинуючої активності лектинів різних сортів хеномелесу від рН буферної системи

Сорт	4,0	4,5	5,0	5,5	6,0	6,5	7,0	7,5	8,0	*Ф.Р.(прототип)
Чудовий	4	5,5	5,5	5,5	5,5	5,5	6,5	6,5	9,0	6,5
Святковий-1	16	2,5	0	1,0	5,5	7,5	19,5	24	11	10,5
Святковий-2	16	9,5	3,5	20	8,5	17,5	24	24	24	17,5
Святковий-3	20	8,0	5,0	6,5	8,0	11	19	24	13	12,0
Ян	16	0	0,5	2,0	3,5	8,0	19,5	24	4,0	10,5
Амфора	16	3,0	3,0	4,0	6,0	8,5	16	24	19	11,5
Голд	16	0	0,5	3,5	4,5	10	16,5	13,5	1,0	13,0
Альоша	17	6,5	4,0	5,0	8,0	13	23	24	17	15,0
Вітамінний	18	18	10,5	9,0	14	17	24	24	24	18,5
Середнє по сортам	15,4	5,9	3,6	6,3	7,1	10,9	18,7	20,9	13,6	12,8

* - фізіологічний розчин

35

Спосіб здійснюють наступним чином. Рослинний матеріал хеномелесу розмелюють і екстрагують 0,05 н HCl у співвідношенні 1:20. Суміш фільтрують і фільтрат центрифугують 20 хв. при 3000 об./хв. Осад виводять з технічного процесу, із надосадкової рідини етанолом концентрують лектини, центрифугують 20 хв. при 3000 об./хв., осад розчиняють в 1,0 мл 0,9 % NaCl. Для визначення активності видалених лектинів готують фосфатно-цитратну буферну суміш з рН=7,0. В імунологічний планшет вносять 0,05 мл буферної суміші, після цього 0,05 мл

40

лектинів вносять у першу лунку і проводять двократне послідовне розведення у 8-ми лунках. У лунки додають по 0,05 мл. 2 %-ї суспензії еритроцитів і планшет витримують одну годину при температурі 22-23 °С. Оцінку активності зразка проводять візуально в балах: від 0 балів - аглютинація відсутня, до 3-х балів - повна аглютинація, після чого підраховують суму в усіх 8-ми лунках.

- 5
- Приклад. В 2014 році була проведена оцінка активності лектинів в листках хеномелесу сорту Ян. Для цього сухий зразок був подрібнений, проведені екстракція 0,05 н НСІ та концентрація білка. Оцінка проводилась в імунологічних планшетах із використанням фізіологічного розчину (за прототипом) та з використанням фосфатно-цитратного буфера рН=7,5. Результати
- 10
- показали, що активність при визначенні за прототипом становила 10,5 балів, а за пропонованим способом - 24,0 балів, що свідчить про переваги розробленого способу.

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

- 15
- Спосіб визначення гемаглютинуючої активності лектинів хеномелесу (*Chaenomeles*) шляхом екстракції рослинного матеріалу 0,05 н НСІ у співвідношенні 1:20, фільтрування, концентрації білків та постановки реакції аглютинації у імунологічних планшетах у буферних системах, який **відрізняється** тим, що визначення проводиться при рН буферної системи 7,0-7,5.

Комп'ютерна верстка Л. Бурлак

Міністерство економічного розвитку і торгівлі України, вул. М. Грушевського, 12/2, м. Київ, 01008, Україна

ДП "Український інститут інтелектуальної власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601