Abstract

Name: Hanan Mahmoud Mohamed Ali El-Huwairy

Nationality: Egyptian.

Date of birth: 28/10/1964

Place of birth: Aswan, Egypt.

Specification degree: Ph. D. (Microbiology)

Title of thesis: **Separation of camel immunoglobulins and preparation of their antibodies.**

Supervisors : Prof. Dr. Salah El-Dien Abd El-Karim Selim

Prof. Dr. Wahid Mohamed Aly Moussa

Dr. Aly Abdou El-Abeidy

Abstract

Camel IgG were prepared by precipitation of camel sera with 50% saturated ammonium sulphate and after that IgG class of immunoglobulins was separated by affinity and ion exchange chromatography. Anti-camel IgG was prepared by immunization of rabbits and goats then anti-camel IgG antibodies were precipitated by ammonium sulphate, then IgG separated by affinity of ion exchange chromatography. Purified anti-camel IgG were conjugated with alkaline phosphatase enzyme and fluorescein isothiocyanate. Sensitivity and specificity of prepared conjugate were evaluated. The conjugates were used for diagnosis of tuberculosis among camels by ELISA and indirect fluorescent antibody techniques.

المستخلص

الأسم: حنان محمود محمد على الحويرى

الجنسية: مصرية

تاريخ الميلاد: ١٩٦٤/١٠/٢٨

محل الميلاد: أسوان-مصر

الدرجة المرشحة لها: درجة الدكتوراه (ميكروبيولوجى)

عنوان الرسالة:

فصل الجلوبيولينات المناعية من دم الجمال وتحضير الأجسام المضادة لها

المشرفون:

أ.د./ صلاح الدين عبد الكريم سالم — أستاذ الميكروبيولوجي- كلية الطب البيطرى-جامعة القاهرة

أ.د./ وحيد محمد على موسى — أستاذ الطفيليات -كلية الطب البيطرى-جامعة القاهرة

د./ على عبده العبيدى — رئيس بحوث ومدير معهد بحوث صحة الحيوان-الدقى

المستخلص

تم فى هذه الرسالة تحضير الأجسام المناعية للجمال من الفئة ج (IgG) عن طريق ترسيبها من سيرم الجمال بسلفات الأمونيوم المشبع بنسبة ٥٠% ثم فصل الفئة ج عن طريق الكروماتوجرافى بواسطة عمود الاجاروز المتحد بالبروتين G -Protein-G" "agarose affinity chromatography وعمود كروماتوجرافى التبادل الأيونى السليلوزى "DEAE-Cellulose ion-exchange chromatography". ثم تم تحضير أجسام مضادة للجلوبيولين المناعى ج بحقنه فى الأرانب والماعز ثم تم فصل هذه الأجسام المضادة وترسيبها ثم تنقية الأجسام المضادة ج تمهيداً لصباغتها بإنزيم الفوسفاتيز القلوى وصبغة الفلورسنت أيزوثيوسيانيت وتم تحديد كفاءة هذه الأجسام المضادة المصبوغة فى تشخيص مرض السل فى الجمال عن طريق اختبار الاليزا والطريقة غير المباشرة للفلورسنت.

CONTENTS

	Page
1. Introduction	1
2. Review of Literature	3
2.1. Purification Of IgG	3
2.2. Preparation Of Anti-Camel IgG	23
2.3. Labelling of anti-species IgG with FITC, alkaline phosphatase and peroxidase	28
2.4. Serodiagnostic techniques for evaluation of conjugation	34
3. MATERIAL AND METHODS	47
3.1. Material	47
3.1.1. Animals	47
3.1.2. Blood collection for serum preparation	48
3.1.3. Resins (chemicals for purification) of immunoglobulins	48
3.1.4. Solutions And Buffers	49
3.1.5. Anti-camel sera	56
3.1.6. Reagents used for estimation of total protein, albumin and globulin	56
3.1.7. Chemicals used for agar gel precipitation test	57
3.1.8. Media modified by addition of horse serum used for subculture of acid fast bacilli (AFB)	57
3.1.9. Apparatus	57
3.1.10. Equipments	58

		Page
3.2. Methods	.....	60
3.2.1. Collection of large quantities of camel blood	.....	60
3.2.2. Separation and storage of serum	.....	60
3.2.3. Preparation of immunoglobulins (IGS)	.....	60
3.2.4. Determination of protein content	.....	63
3.2.5. Separation of IgG	.....	64
3.2.6. Determination of protein content	.....	66
3.2.7. Specificity of antibodies	.....	67
3.2.8. Preparation of anti-camel IgG	.....	68
3.2.9. Detection of antibodies	.....	69
3.2.10. Purification of anti-camel IgG	.....	70
3.2.11. Specificity of the antibodies by agar gel precipitation test	.....	71
3.2.12. Labelling of anti-camel IgG	.....	72
3.2.13. Evaluation of anti-camel IgG conjugate	.....	73
3.2.14. Application of prepared conjugated (anti-camel IgG)	.....	76
4. Results	.....	78
5. Discussion	.....	120
6. Summary	.....	141
7. References	.....	144
8. Arabic summary.		

LIST OF ABBREVIATIONS

AFB	:	Acid Fast Bacilli
AGPT	:	Agar Gel Precipitation Test
BSA	:	Bovine Serum Albumin
DEAE-cellulose	:	Di Ethyl Amino Ethyl cellulose
ELISA	:	Enzyme Linked Immunosorbent Assay
FCA	:	Fruend's Complete Adjuvant
FIA	:	Fruend's Incomplete Adjuvant
FITC	:	Fluorescen Isothiocyanate
IFA	:	Indirect Fluorescent Antibody technique
Ig	:	Immunoglobulin
IgG	:	Immunoglobulin-G
Igs	:	Immunoglobulins
OD	:	Optical Density
PBS	:	Phosphate Buffer Saline
PEG	:	Poly Ethylene Glycol
PM	:	Post Mortem
PPD	:	Purified Protein Derivatives
S/C	:	Subcutaneous
SAS	:	Saturated Ammonium Sulphate
TB	:	Tuberculosis