

УДК 557.27(07)

ББК 28.074я7

Д 36

Рецензент

доктор медицинских наук, Ю.А. Брудастов

Д 36

Дерябин, Д.Г.

Методы иммунологических исследований: методические указания к лабораторному практикуму по иммунологии / Д.Г. Дерябин, Н.А. Романенко. – Оренбург: ГОУ ОГУ, 2009. – 44 с.

Методические указания предназначены для выполнения лабораторных занятий по курсу «Иммунология» как специальной дисциплины и дисциплины специализации в 7-ом семестре по специальности 020209 – Микробиология и общепрофессиональной дисциплины по специальностям 011600 – Биология, 013500 – Биоэкология

ББК 28.074я7

© Дерябин Д.Г.,
Романенко Н.А., 2009
© ГОУ ОГУ, 2009

Содержание

Введение	4
1 Реакции «антиген-антитело»	5
1.1 Реакция агглютинации	7
1.1.1 Реакция агглютинации для выявления антител (реагинов) в сыворотке крови при диагностике сифилиса	8
1.1.2 Реакция агглютинации на стекле для выявления антигена при определении серотипа кишечной палочки (<i>Escherichia coli</i>)	9
1.1.3 Реакция гемагглютинации при определении группы крови человека	11
1.1.4 Реакция непрямой (пассивной) гемагглютинации при определении титра антител к возбудителю кори для оценки напряженности противокорревого иммунитета	14
1.2. Реакция преципитации	17
1.2.1 Реакция преципитации для определения токсигенности <i>Corynebacterium diphtheriae</i>	17
1.2.2 Реакция преципитации для определения концентрации иммуноглобулинов разных классов в сыворотке крови человека	19
1.3 Реакции «антиген-антитело» с использованием «метки»	22
1.3.1 Реакция иммунохроматографии для выявления хорионического гонадотропина в моче	23
1.3.2 Реакция иммунофлюоресценции для выявления <i>Chlamydia trachomatis</i> в пробах из цервикального канала (у женщин) или уретры (у мужчин)	24
1.3.3 Неконкурентный иммуноферментный анализ для количественного определения альфа-фетопротеина в сыворотке крови человека	25
1.3.4 Конкурентный иммуноферментный анализ для количественного определения кортизола в сыворотке крови человека	28
1.3.5 Иммуноферментный анализ для определения индекса авидности иммуноглобулинов класса G к вирусу краснухи в сыворотке крови человека	30
1.4 Многокомпонентные иммунологические реакции	32
1.4.1 Реакция связывания комплемента	33
1.4.2 Опсонно-фагоцитарная реакция	35
2 Реакции, направленные на выявление и оценку функциональной активности клеток иммунной системы	37
2.1 Реакция розеткообразования для обнаружения Т- и В-лимфоцитов	37
2.2 Реакция бласттрансформации лимфоцитов	39
Список использованных источников	41
Приложение А Вопросы для подготовки к экзамену по дисциплине «Иммунология»	42

Введение

Дисциплина «Иммунология» изучается студентами специальности 020209 – Микробиология в 7-ом семестре как специальная дисциплина и дисциплина специализации (Федеральный компонент ДС.Ф.06), студентами специальностей 011600 – Биология, 013500 – Биоэкология как общепрофессиональная дисциплина (Федеральный компонент ОПД.Ф.02).

Дисциплина изучается в соответствии с учебными планами специальностей с учетом ГОС ВПО (раздел 4 «Общие требования к обязательному минимуму содержания основной образовательной программы по направлениям подготовки дипломированного специалиста»), введенными в действие Министерством образования Российской Федерации.

Основной целью преподавания дисциплины является формирование развернутых и современных представлений о механизмах функционирования иммунной системы, условиях развития иммунологических реакций и их использовании для диагностики инфекционных и иных заболеваний, оценки иммунного статуса.

В органической связи с получением фундаментальных знаний по данной проблеме важной целью изучения дисциплины является формирование практических навыков выполнения иммунологических исследований, опыта постановки, регистрации и интерпретации результатов иммунологических реакций.

1 Реакции «антиген-антитело»

В иммунологии применяется целый ряд экспериментальных методов из других областей биологии. Так, выделение антигенов и антител производят с помощью биохимических методов фракционирования белков, гены иммунологически важных молекул секвенируют обычными молекулярно-генетическими методами. Вместе с тем, прогресс современной иммунологии гораздо больше, чем развитие других биологических дисциплин связан с эволюцией своих специальных методов исследования, основанных на взаимодействии антиген-антитело. Эти иммунологические методы в свою очередь нашли применение в различных областях науки и промышленного производства. В настоящее время существуют сотни разнообразных иммунологических методов; наиболее широко применяемые из них описаны в этой главе.

Основными преимуществами иммунологических методов являются следующие:

- 1) с помощью таких методов можно выявлять как антитела, так и антигены;
- 2) определение может быть качественным и количественным;
- 3) эта группа методов не требует большого количества материала для анализа;
- 4) большая чувствительность.

Реакции взаимодействия между антителом (АТ) и соответствующим ему антигеном (АГ) протекают в две фазы:

1-ая фаза – **специфическая** – определяется взаимодействием между переменными антигенсвязывающими участками, расположенными в Fab-фрагментах антител, и детерминантными группами на поверхности антигена.

2-ая фаза – **неспецифическая** – в ходе нее образовавшийся комплекс «антиген-антитело» взаимодействует с неспецифическими факторами среды, в которой происходит реакция.

В зависимости от природы данных неспецифических факторов взаимодействие АГ-АТ ведет к формированию различных по своему проявлению реакций (таблица 1).

Соответственно, по данному признаку все иммунологические реакции могут быть классифицированы на:

- двухкомпонентные реакции, участие в которых принимают только антитела и антигены – реакции агглютинации и преципитации;
- реакции с использованием «метки», присоединяемой к одному из компонентов реакции и облегчающих ее регистрацию оптическими или иными приборами, – реакции иммунофлюоресценции, радиоиммунный, иммуноферментный анализ и др.;