



Тула 2023 год

## Разработчик(и) методических указаний

Честнова Т.В., зав. кафедрой, д.б.н., доцент  
(ФИО, должность, ученая степень, ученое звание)

  
\_\_\_\_\_  
(подпись)

Игнаткова А.С., доцент, к.м.н.  
(ФИО, должность, ученая степень, ученое звание)

  
\_\_\_\_\_  
(подпись)

## САМОСТОЯТЕЛЬНАЯ РАБОТА ОРДИНАТОРА

№№	Темы, выносимые для самостоятельного изучения
1.	Современный иммунохимический анализ. Общая характеристика иммуноферментного анализа, преимущества и недостатки фермент-зависимых меток. Области применения ИФА.
2.	Антигены. Структурные основы антигенной специфичности белков, полисахаридов, нуклеиновых кислот. Гаптены. Использование гаптенных для изучения специфичности антигенных детерминант, работы К. Ландштейнера. Требования, предъявляемые к антигенам, использующимся в ИФА в качестве меченых препаратов и стандартов.
3.	Антитела. Общая характеристика структуры молекул иммуноглобулинов. Первичная структура Н- и L-цепей иммуноглобулинов. Трехмерная структура иммуноглобулинов. Антигенсвязывающие центры антител. Характеристика классов иммуноглобулинов: IgG, IgA, IgM, IgE, IgD. Специфичность и гетерогенность антител, перекрестная реактивность. Понятие аффинности и авидности антител.
4.	Термодинамические и кинетические закономерности реакции взаимодействия антиген-антитело.
5.	Методы определения аффинности антител: равновесный диализ, фракционное осаждение, флуоресцентные методы.
6.	Способы расчета констант комплексообразования реакции антиген-антитело: взаимодействие одной субпопуляции антител с моновалентным антигеном; взаимодействие одной субпопуляции антител с поливалентным антигеном; взаимодействие двух субпопуляций антител с моновалентным антигеном; взаимодействие поликлональной антисыворотки с антигеном.
7.	Основные понятия и термины, используемые в энзимологии. Физико-химические и каталитические свойства ферментов.
8.	Кинетические закономерности протекания ферментативных реакций. Экспериментальные методы определения ферментативной активности. Критерии выбора ферментных меток.
9.	Характеристика ферментов, используемых в ИФА в качестве меток: пероксидаза хрена, глюкозооксидаза, щелочная фосфатаза, $\beta$ -D-галактозидаза, глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа, малатдегидрогеназа. Факторы, влияющие на активность ферментов при проведении ИФА.
10.	Получение антител. Иммуногенность антигенов. Антисыворотки как источники поликлональных антител. Иммунизация, факторы, влияющие на успех иммунизации: природа и доза иммуногена, использование адъюванта, вид взятых для иммунизации животных, способ иммунизации, порядок и время введения антигена и сбора антисыворотки.

11.	Хранение антисывороток. Тестирование антисывороток. Моноклональные антитела. Получение гибридом. Использование моноклональных антител в иммуноанализе.
12.	Выделение и очистка антител из различных источников: осаждение сульфатом аммония, хроматография, иммуноадсорбция. Получение иммобилизованных антител и антигенов: носители, применяемые в ИФА; иммобилизация антител и антигенов; неспецифическое связывание с иммуносорбентом. Свойства иммобилизованных антител. Получение конъюгатов: синтез конъюгатов гаптен с носителями для получения антител; получение конъюгатов фермент-белок; получение конъюгатов гаптен-фермент; получение конъюгатов антигенов (антител) с субстратами.
13.	Направления и перспективы развития ИФА.
14.	Анализ результатов определения антигена. Особенности анализа экспериментальных данных определения антител. Источники ошибок при проведении ИФА. Параметры, характеризующие ИФА: предел обнаружения, длительность, точность и специфичность. ИФА в диагностике гормональных заболеваний. ИФА в диагностике аллергических заболеваний.
15.	Синтетические олигонуклеотиды. Состав буфера. Роль ионов магния. Дезоксинуклеотидтрифосфаты.
16.	Подготовка к зачету.

## **Перечень контрольных вопросов усвоения темы.**

### **Тема 1. Современный иммунохимический анализ.**

1. Общая характеристика иммуноферментного анализа
2. Преимущества и недостатки фермент-зависимых меток.
3. Область применения ИФА.

### **Тема 2. Структура и свойства антигенов.**

1. Понятие антигена
2. Свойства антигенов.
3. Классификация антигенов.
4. Гаптены. Использование гаптенов для изучения специфичности антигенных детерминант, работы К. Ландштейнера.
5. Требования, предъявляемые к антигенам, использующимся в ИФА в качестве меченых препаратов и стандартов.

### **Тема 3. Структура и свойства антител.**

1. Определение антител.
2. Общая характеристика структуры молекул иммуноглобулинов. Первичная структура Н- и L-цепей иммуноглобулинов. Трехмерная структура иммуноглобулинов. Антигенсвязывающие центры антител.
3. Свойства антител. Понятие аффинности и авидности антител.
4. Характеристика классов иммуноглобулинов: IgG, IgA, IgM, IgE, IgD.
5. Специфичность и гетерогенность антител, перекрестная реактивность.

### **Тема 4. Термодинамические и кинетические закономерности реакции взаимодействия антиген-антитело.**

1. Иммунологическая специфичность.
2. Аффинность АТ
3. Авидность АТ
4. Равновесная константа образования иммунного комплекса
5. Методы, определяющие концентрацию свободного и связанного АГ.

### **Тема 5. Методы определения аффинности антител**

1. Равновесный диализ
2. Фракционное осаждение
3. Флюоресцентные методы.

**Тема 6.** *Способы расчета констант комплексообразования реакции антиген-антитело*

1. Расчет констант взаимодействия одной субпопуляции антител с моновалентным антигеном.
2. Расчет констант взаимодействия одной субпопуляции антител с поливалентным антигеном.
3. Расчет констант взаимодействия двух субпопуляций антител с моновалентным антигеном.
4. Расчет констант взаимодействия поликлональной антисыворотки с антигеном.

**Тема 7.** *Энзимология.*

1. Основные понятия и термины, используемые в энзимологии.
2. Физико-химические свойства ферментов.
3. Каталитические свойства ферментов.

**Тема 8.** *Кинетические закономерности протекания ферментативных реакций.*

1. Экспериментальные методы определения ферментативной активности.
2. Критерии выбора ферментных меток.

**Тема 9.** *Характеристика ферментов, используемых в ИФА в качестве меток.*

1. Пероксидаза хрена
2. Глюкозооксидаза
3. Щелочная фосфатаза
4.  $\beta$ -D-галактозидаза
5. Глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа, малатдегидрогеназа.
6. Факторы, влияющие на активность ферментов при проведении ИФА.

**Тема 10.** *Получение реагентов для ИФА*

1. Получение антител.
2. Иммуногенность антигенов.
3. Антисыворотки как источники поликлональных антител.
4. Иммунизация, факторы, влияющие на успех иммунизации: природа и доза иммуногена, использование адъюванта, вид взятых для иммунизации животных, способ иммунизации, порядок и время введения антигена и сбора антисыворотки.

**Тема 11.** *Получение реагентов для ИФА*

1. Хранение антисывороток.
2. Тестирование антисывороток.
3. Моноклональные антитела.
4. Получение гибридом.
5. Использование моноклональных антител в иммуноанализе.

### **Тема 12. Методы ИФА**

1. Выделение АТ с помощью осаждения сульфата аммония
2. Хроматография
3. Иммуноадсорбция.
4. Носители, применяемые в ИФА
5. Иммобилизация антител и антигенов; неспецифическое связывание с иммуносорбентом.
6. Свойства иммобилизованных антител.
7. Получение конъюгатов: синтез конъюгатов гаптен с носителями для получения антител; получение конъюгатов фермент-белок; получение конъюгатов гаптен-фермент; получение конъюгатов антигенов (антител) с субстратами.

### **Тема 13. Направления и перспективы развития ИФА.**

1. ИФА в диагностике гормональных заболеваний
2. ИФА в диагностике аллергических заболеваний
3. ИФА в диагностике инфекционных заболеваний
4. ИФА в диагностике онкомаркеров.

### **Тема 14. Методы представления и обработки экспериментальных данных**

1. Анализ результатов определения антигена.
2. Особенности анализа экспериментальных данных определения антител.
3. Источники ошибок при проведении ИФА.
4. Параметры, характеризующие ИФА: предел обнаружения, длительность, точность и специфичность.

### **Тема 15. Основные компоненты реакционной смеси ПЦР.**

1. Синтетические олигонуклеотиды (праймеры).
2. Состав буфера.
3. Роль ионов магния.
4. Дезоксинуклеотидтрифосфаты (dНТФ).

## **БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК РЕКОМЕНДУЕМОЙ ЛИТЕРАТУРЫ**

1. Кишкун А.А. Руководство по лабораторным методам диагностики : для врачей и фельдшеров, оказыв. первичную мед.-санитарную помощь / А.А.Кишкун .— М. : ГЭОТАР-Медиа, 2007 .— 800с. — ISBN 5-9704-0316-4 /в пер.
2. Меньшиков В.В. Руководство по клинической лабораторной диагностике / под ред.В.В.Меньшикова.— М.: Медицина, 1982 .— 576с. : ил. — Библиогр.в конце кн. — ISBN /в пер.
3. Камышников В.С. Справочник по клинико-биохимической лабораторной диагностике: В 2 т. Т.1 .— Минск: Беларусь, 2000 .— 495с. : ил. — /в пер.
4. Карпищенко А.И. Медицинская лабораторная диагностика: Программы и алгоритмы : справочник / А.М.Чайка, А.И.Карпищенко, А.А.Бутко и др.; Под ред.А.И.Карпищенко .— СПб. : Интермедика, 1997 .— 304 с. : ил.
5. Цынко Т.Ф. Диагностика заболеваний по анализам крови и мочи / Авт.-сост.Цынко Т.Ф. — 2-е изд. — Ростов-н/Д : Феникс, 2002 .— 128с. — (Медицина для вас).— Библиогр.в конце кн. — ISBN 5-222-02753-8
6. Финогеев Ю.П. Клинико-лабораторная диагностика инфекционных болезней: Руководство для врачей / Ю.П.Финогеев, Ю.В.Лобзин, Ю.А.Винакмен и др.; Под общ.ред. Ю.В.Лобзина .— СПб. : Фолиант, 2001 .— 384с. — Библиогр.в конце кн. — /В пер./:130р.
7. Вахрушев Я.М. Лабораторные методы диагностики : учеб. пособие / авт.-сост. Я. М. Вахрушев, Е. Ю. Шкатова .— 2-е изд.— Ростов-н/Д : Феникс, 2007 .— 96 с. : ил.— (Медицина) .— Библиогр.: с. 94 .— ISBN 978-5-222-12685-1.