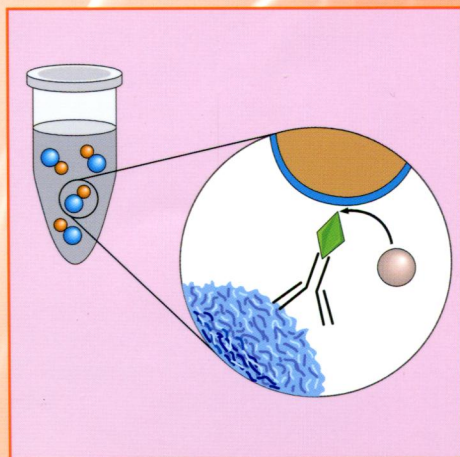


# ИММУНОЛОГИЯ ПРАКТИКУМ

УЧЕБНОЕ ПОСОБИЕ

Под редакцией  
профессора  
**Л.В. Ковальчука,**  
профессора  
**Г.А. Игнатъевой,**  
профессора  
**Л.В. Ганковской**



ИЗДАТЕЛЬСКАЯ ГРУППА  
«ГЭОТАР-Медиа»

# ИММУНОЛОГИЯ

## ПРАКТИКУМ

КЛЕТОЧНЫЕ, МОЛЕКУЛЯРНЫЕ И ГЕНЕТИЧЕСКИЕ  
МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

---

**УЧЕБНОЕ ПОСОБИЕ**

Под редакцией  
профессора Л.В. Ковальчука,  
профессора Г.А. Игнатъевой,  
профессора Л.В. Ганковской

Регистрационный номер рецензии 643 от 25 декабря 2009 г.  
ФГУ «Федеральный институт развития образования»

Рекомендовано ГОУ ВПО «Московская медицинская академия имени И.М. Сеченова» в качестве учебного пособия для студентов учреждений высшего профессионального образования, обучающихся по специальностям 060101.65 «Лечебное дело», 060103.65 «Педиатрия», 060104.65 «Медико-профилактическое дело», 060112.65 «Медицинская биохимия», 060113.65 «Медицинская биофизика», 060114.65 «Медицинская кибернетика»



Москва  
ИЗДАТЕЛЬСКАЯ ГРУППА  
«ГЭОТАР-Медиа»  
2010

УДК [612.017+577.27](076)(075.8)  
ББК 52.54я73-5+28.074я73-5  
И53

**Авторский коллектив кафедры иммунологии ГОУ ВПО РГМУ:**

*Ковальчук Леонид Васильевич*, проф., акад. РАЕН, зав. кафедрой; *Игнатъева Галина Алексеевна*, проф.; *Ганковская Людмила Викторовна*, проф.; *Соколова Евгения Васильевна*, проф.; *Хорева Марина Викторовна*, канд. мед. наук; *Сеславина Лия Сергеевна*, д-р мед. наук; *Ганковская Оксана Анатольевна*, канд. мед. наук; *Никонова Анна Сергеевна*, канд. мед. наук; *Левченко Вера Арефьевна*, канд. мед. наук.

И53 **Иммунология** : практикум : учеб. пособие / [Ковальчук Л. В. и др.]; под ред. Л. В. Ковальчука, Г. А. Игнатъевой, Л. В. Ганковской. — М. : ГЭОТАР-Медиа, 2010. — 176 с. : ил.

ISBN 978-5-9704-1317-3

В пособии представлены современные методы, применяемые в иммунологии и в самых разных областях биологии и медицины. Наряду с классическими методами выделения клеток иммунной системы, изучения их функциональной активности подробно освещены методы иммуноанализа, исследования экспрессии генов методом ПЦР, микрочипов, направленный мутагенез, гибридная биотехнология и др. Представлен комплексный подход к оценке системы цитокинов — одной из важных регуляторных систем организма. Приведены основные принципы и этапы постановки методов, часть которых может быть воспроизведена в рамках практических занятий. Пособие хорошо иллюстрировано.

Предназначено студентам врачебных и биологических специальностей медицинских вузов и университетов, а также ординаторам, аспирантам, врачам всех специальностей, специалистам, работающим в разных областях биологии и медицины.

Издание рекомендовано для использования в преподавании в медицинских вузах Проблемной учебно-методической комиссией по иммунологии и аллергологии.

Рекомендовано в печать Центральным координационно-методическим советом РГМУ.

УДК [612.017+577.27](076)(075.8)

ББК 52.54я73-5+28.074я73-5

*Права на данное издание принадлежат ООО Издательская группа «ГЭОТАР-Медиа». Воспроизведение и распространение в каком бы то ни было виде части или целого издания не могут быть осуществлены без письменного разрешения ООО Издательская группа «ГЭОТАР-Медиа».*

© Коллектив авторов, 2009

© ООО Издательская группа «ГЭОТАР-Медиа», 2010

© ООО Издательская группа «ГЭОТАР-Медиа»,  
оформление, 2010

ISBN 978-5-9704-1317-3

# ОГЛАВЛЕНИЕ

Введение .....	5
<b>Глава 1. Объекты исследования в иммунологии .....</b>	<b>8</b>
1.1. Инбредные животные .....	8
1.2. Линии мышей с генетическими дефектами, затрагивающими иммунную систему .....	14
1.3. Линии мышей с аутоиммунной патологией .....	17
1.4. Биологические материалы для исследований .....	18
1.5. Методические особенности работы с иммунокомпетентными клетками .....	20
<b>Глава 2. Методы разделения клеток периферической крови .....</b>	<b>24</b>
2.1. Выделение лейкоцитов .....	25
2.2. Выделение мононуклеарных клеток .....	25
2.3. Выделение моноцитов .....	27
2.4. Выделение нейтрофилов .....	29
2.5. Аналитическая и препаративная цитофлуориметрия .....	30
2.6. Иммуномагнитная сепарация клеток .....	38
<b>Глава 3. Методы изучения функциональной     активности клеток иммунной системы <i>in vitro</i> и <i>in vivo</i> ....</b>	<b>43</b>
3.1. Оценка пролиферативной активности лимфоцитов .....	43
3.2. Оценка клеточной цитотоксичности .....	46
3.3. Оценка функциональной активности фагоцитов .....	54
3.5. Культура клеток <i>in vivo</i> .....	70
<b>Глава 4. Иммуноанализы .....</b>	<b>74</b>
4.1. Методы определения преципитатов антител с антигенами в геле .....	75
4.2. Иммуноферментный и радиоиммунный анализы .....	84
4.3. Чувствительность, специфичность, диагностическая эффективность тест-систем иммуноанализов .....	97
4.4. Определение количества клеток, секретирующих тот или иной продукт, — метод ELISPOT .....	100
4.5. Методы исследования внутриклеточных цитоплазматических и ядерных белков — факторов транскрипции, сигнальных молекул и других .....	103
<b>Глава 5. Гибридная технология. Моноклональные антитела ...</b>	<b>110</b>
<b>Глава 6. Генетические методы исследования в иммунологии .....</b>	<b>116</b>
6.1. Полимеразная цепная реакция .....	116
6.2. Исследование экспрессии генов методом микрочипов .....	131

---

6.3. Получение мышей с нокаутом (knock-out) и нокином (knockin) генов — метод направленного мутагенеза . . . . .	135
6.4. Применение регуляторных микро-РНК в иммунологических исследованиях . . . . .	140
<b>Глава 7. Методы оценки системы цитокинов. . . . .</b>	<b>148</b>
<b>Литература . . . . .</b>	<b>173</b>