

УДК 577

ББК 28.072

В 75

*Рецензент: доктор медицинских наук, профессор Б.И. Пинегин*

Воробьева Н. В.

В 75 Иммунодиффузия и иммуноэлектрофорез

Теория и практика

-М.: Научный мир, 2006. - 80 с., илл. 30

ISBN 5-89176-339-7

Книга представляет собой практическое руководство по использованию методов иммунодиффузии, иммуноэлектрофореза и его разнообразных модификаций. Книга содержит лекционный курс иммунохимии и задачи Большого практикума который много лет проводится для студентов кафедры клеточной физиологии и иммунологии (с 2002 г. - физиологии микроорганизмов) Биологического факультета МГУ им. М.В. Ломоносова.

Пособие предназначено для иммунологов, биохимиков, молекулярных биологов и микробиологов - студентов, преподавателей и научных работников. Оно также будет полезно врачам-клиницистам.

**Vorobjeva N. V.**

**A manual of immunodiffusion and immunoelectrophoresis.**

**Theory and practice.**

**This book represents a practical manual on using methods of immunodiffusion and different types of immunoelectrophoresis. The book includes the course of lectures on immunochemistry as well as the labs of the department curriculum which has been conducted for many years for the students of the Department of Cell Physiology and Immunology (since 2002 - Physiology of Microorganisms) of Lomonosov Moscow State University.**

**The book is intended for immunologists, biochemists, molecular biologists, microbiologists - students, teachers and researchers in relevant fields. It is also expected to be useful for medical doctors.**

© Научный мир, 2006

© Воробьева Н.В., 2006

*Светлой памяти профессора М.В. Гусева*

### От автора

Эта книга была впервые опубликована в 2000 году и предназначалась для студентов биологических факультетов университетов и медицинских институтов. Предлагаемое издание представляет собой новую версию, усовершенствованную и дополненную в соответствии с современными достижениями не только иммунохимии, но и молекулярной биологии, биохимии и молекулярной генетики.

Основу книги составляют теоретические положения современных иммунохимических методов, а также их подробное описание. Пять разделов посвящены постановке задач по иммунодиффузии и иммуноэлектрофорезу, которые относятся к программе “Большого практикума” кафедры клеточной физиологии и иммунологии (с 2002 г. - кафедра физиологии микроорганизмов) Биологического факультета МГУ им. М.В. Ломоносова. Отдельные главы касаются описания модификаций основных иммуноэлектрофоретических методов. Новое издание содержит предметный указатель и приложения с описанием свойств агарозы и теоретических основ электрофореза.

К сожалению после появления первого издания произошло печальное событие - умер заведующий кафедрой клеточной физиологии и иммунологии профессор М.В. Гусев. Он организовал кафедру в 1984 году и был ее бессменным руководителем почти 22 года. Под его руководством здесь были созданы курсы лекций и спецкурсы по различным направлениям иммунологии, разработаны задачи Большого практикума по иммунохимическим методам. Поэтому данное пособие, как следствие обобщения накопленного опыта, появилось во многом благодаря творческому процессу, стимулированному ее руководителем.

Автор надеется, что книга будет интересна студентам, специализирующимся в области иммунологии, биохимии, молекулярной биологии, биоорганической химии, а также научным сотрудникам, работающим в соответствующих областях.

*Автор*

## Оглавление

|   |    |
|---|----|
| От автора.....  | 3  |
| 1. Иммунодиффузия и иммуноэлектрофорез.....                     | 4  |
| 1.1. Диффузия и электрофорез в жидкой и гелеобразной среде..... | 5  |
| 1.2. Реакции преципитации и флоккуляции.....                    | 7  |
| 1.3. Классификация систем иммунопреципитации.....               | 10 |
| 1.4. Иммунопреципитация в гелеобразных средах.....              | 12 |
| 2. Принципы постановки методов иммунодиффузии.....              | 15 |
| 3. Двойная радиальная иммунодиффузия по Оухтерлони.....         | 18 |
| 3.1. Принцип метода.....  | 18 |
| 3.2. Цель эксперимента.....                                     | 19 |
| 3.3. Материалы и оборудование.....                              | 19 |
| 3.4. Ход эксперимента.....                                      | 19 |
| 3.5. Учет полученных данных.....                                | 21 |
| 3.6. Сравнительный анализ.....                                  | 21 |
| 4. Простая радиальная иммунодиффузия по Манчини.....            | 23 |
| 4.1. Принцип метода.....  | 23 |
| 4.2. Цель эксперимента.....                                     | 23 |
| 4.3. Материалы и оборудование.....                              | 23 |
| 4.4. Ход эксперимента.....                                      | 24 |
| 4.5. Количественная оценка результатов.....                     | 25 |
| 4.6. Замечания.....   | 27 |
| 4.7. Сушка и хранение препаратов.....                           | 28 |
| 4.8. Окрашивание гелей.....                                     | 28 |
| 5. Иммуноэлектрофорез.....                                      | 29 |
| 5.1. Принцип метода.....  | 29 |
| 5.2. Приготовление гелей.....                                   | 29 |
| 5.3. Материалы и оборудование.....                              | 30 |
| 5.4. Ход эксперимента.....                                      | 31 |
| 5.5. Учет полученных данных.....                                | 32 |

|  |    |
|--|----|
| 6. Ракетный иммуноэлектрофорез.....  |    |
| 6.1. Принцип метода.....   |    |
| 6.2. Цель эксперимента.....  |    |
| 6.3. Материалы и оборудование.....   |    |
| 6.4. Ход эксперимента.....   | 37 |
| 6.5. Замечания.....  | 37 |
| 7. Перекрестный иммуноэлектрофорез.....  | 39 |
| 7.1. Принцип метода.....   | 39 |
| 7.2. Материалы и оборудование.....   | 40 |
| 7.3. Ход эксперимента.....   | 40 |
| 7.4. Учет полученных данных.....   | 42 |
| 8. Слитный ракетный иммуноэлектрофорез.....  | 44 |
| 9. Линейный иммуноэлектрофорез.....  | 46 |
| 10. Ракетный линейный иммуноэлектрофорез.....                                      | 48 |
| 11. Перекрестный линейный иммуноэлектрофорез ————— —                               | 50 |
| 12. Тандемный перекрестный иммуноэлектрофорез.....                                 | 52 |
| 13. Метод иммуноэлектрофореза с введением промежуточного геля.....                 | 54 |
| Приложение 1.....  | 56 |
| ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА АГАРОЗЫ.....  | 56 |
| Преимущества агарозы.....  | 57 |
| Свойства агарозы.....  | 57 |
| Электроэндо́смос (ООО).....  | 58 |
| Как измеряется ООО.....  | 58 |
| Гелеобразование.....   | 59 |
| Температура плавления и гелеобразования.....                                       | 59 |
| Метилирование агарозы.....   | 60 |
| Прочность геля.....  | 60 |
| Приложение 2.....  | 62 |
| ТЕОРЕТИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ ЭЛЕКТРОФОРЕЗА.....  | 62 |
| Напряжение, ток и мощность: взаимосвязанные параметры геле-<br>электрофореза ..... | 62 |

## Оглавление

|   |    |
|---|----|
| Введение.....                                 | 62 |
| Закон Ома.....                                | 62 |
| Второй закон.....                             | 63 |
| Электрофорез.....                             | 63 |
| Стабилизация мощности, тока и напряжения..... | 63 |
| Введение.....                                 | 63 |
| Стабилизация по мощности.....                 | 63 |
| Стабилизация по току.....                     | 65 |
| Стабилизация по напряжению.....               | 65 |
| Приложение 3.....                             | 68 |
| РАСТВОРЫ ДЛЯ ПОСТАНОВКИ ИД и ИЭ.....          | 68 |
| Рекомендуемая литература.....                 | 70 |
| Предметный указатель.....                     | 71 |
| Оглавление.....                               | 74 |
| Contents.....                                 | 77 |