

Белорусский государственный университет



22 июня 2017 г.

Регистрационный № УД - 3978/уч.

### **Иммуноферментный анализ**

**Учебная программа учреждения высшего образования  
по учебной дисциплине для специальности:**

1-31 01 02 Биохимия

специализаций 1-31 01 02 01 Аналитическая биохимия

и 1-31 01 02 02 Биохимия лекарственных средств

2017 г.

Учебная программа составлена на основе ОСВО 1-31 01 02-2013 и учебных планов УВО № G31-130/уч. 2013 г. и № G31з-158/уч. 2013 г.

**СОСТАВИТЕЛЬ:**

Игорь Викторович Семак, заведующий кафедрой биохимии Белорусского государственного университета, кандидат биологических наук, доцент

**РЕКОМЕНДОВАНА К УТВЕРЖДЕНИЮ:**

Кафедрой биохимии Белорусского государственного университета (протокол № 14 от 27 апреля 2017 г.);

Учебно-методической комиссией биологического факультета Белорусского государственного университета (протокол № 10 от 31 мая 2017 г.)

## ПОЯСНИТЕЛЬНАЯ ЗАПИСКА

Учебная дисциплина «Иммуноферментный анализ» является одним из спецкурсов, предназначенных для студентов специальности 1-31 01 02 «Биохимия» специализаций 1-31 01 02 01 Аналитическая биохимия и 1-31 01 02 02 Биохимия лекарственных средств.

Иммуноферментный анализ (ИФА) является одним из наиболее активно развивающихся направлений иммунохимии, как в нашей стране, так и за рубежом. Полученные студентами знания могут быть использованы для успешного решения целого ряда биохимических, биотехнологических и фармакологических задач прикладного и фундаментального характера.

Теоретические положения лекционного курса развиваются и закрепляются на лабораторных занятиях, при выполнении которых студенты приобретают навыки подбора оптимальных условий протекания ферментативных реакций, изучения структуры и свойств антител и антигенов, знакомятся с методами ИФА.

**Цель учебной дисциплины** – дать представление об иммуноферментном анализе как методе исследования, научить получать реагенты для ИФА, разрабатывать схемы проведения ИФА и трактовать результаты ИФА.

**В задачи учебной дисциплины входит** освоение студентами основных принципов иммуноферментного анализа; закрепление теоретических положений лекционного курса на лабораторных занятиях.

Учебная программа составлена с учетом межпредметных связей и учебных программ по смежным дисциплинам «Иммунология», «Энзимология», «Иммобилизованные клетки и ферменты» и др.).

В результате изучения дисциплины обучаемый должен:

**знать:**

- структуру и свойства антигенов и антител;
- физико-химические закономерности взаимодействия антиген-антитело, методы определения и способы расчета аффинности антител;
- ферменты, используемые для ИФА и кинетические закономерности протекания ферментативных реакций;
- способы получения реагентов для ИФА;
- классификацию методов ИФА, их особенности и схемы проведения;
- современные информационные технологии, используемые в ИФА;
- новейшие достижения и перспективы развития ИФА.

**уметь:**

- получать реагенты для ИФА;
- разрабатывать схемы проведения ИФА;
- представлять и обрабатывать данные ИФА;
- пользоваться специализированными компьютерными базами данных и ресурсами Интернета.

**владеть:**

- базовой терминологией, применяющейся в ИФА;
- методологическими основами ИФА;
- технологиями, используемыми для создания наборов и проведения ИФА.

Изучение учебной дисциплины должно обеспечить формирование у студента следующих компетенций:

АК-1. Уметь применять базовые научно-теоретические знания для решения теоретических и практических задач.

АК-3. Владеть исследовательскими навыками.

АК-4. Уметь работать самостоятельно.

АК-6. Владеть междисциплинарным подходом при решении проблем.

СЛК-4. Владеть навыками здоровьесбережения.

СЛК-6. Уметь работать в команде.

ПК-2. Осваивать новые модели, теории, методы исследования, участвовать в разработке новых методических подходов.

ПК-3. Осуществлять поиск и анализ данных по изучаемой проблеме в научной литературе, составлять аналитические обзоры.

ПК-7. Осуществлять поиск и анализ данных по изучаемой проблеме в научно-технических и других информационных источниках.

В соответствии с учебным планом очной формы получения образования изучение учебной дисциплины осуществляется в 10 семестре. Программа учебной дисциплины рассчитана на 140 часов, из них 48 часов аудиторных. Распределение по видам занятий: 28 – лекционные, 16 – лабораторные занятия, 4 – аудиторного контроля управляемой самостоятельной работы студентов.

В соответствии с учебным планом заочной формы получения образования изучение учебной дисциплины осуществляется в 10-11 семестрах. Программа учебной дисциплины рассчитана на 140 часов, из них 24 часа аудиторных. Распределение по видам занятий: 20 – лекционные, 4 – лабораторные занятия.

Форма аттестации по учебной дисциплине – экзамен.

## **СОДЕРЖАНИЕ УЧЕБНОГО МАТЕРИАЛА**

### **1. ВВЕДЕНИЕ**

Современный иммунохимический анализ. Общая характеристика иммуноферментного анализа; преимущества и недостатки фермент-зависимых меток. Области применения ИФА.

### **2. СТРУКТУРА И СВОЙСТВА АНТИГЕНОВ И АНТИТЕЛ**

Антигены. Структурные основы антигенной специфичности белков, полисахаридов, нуклеиновых кислот. Гаптены. Использование гаптенных для изучения специфичности антигенных детерминант, работы К.

Ландштейнера. Требования, предъявляемые к антигенам, используемым в ИФА в качестве меченых препаратов и стандартов.

**Антитела.** Общая характеристика структуры молекул иммуноглобулинов. Первичная структура H- 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.

### **3. ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ ЗАКОНОМЕРНОСТИ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ АНТИГЕН-АНТИТЕЛО**

Термодинамические и кинетические закономерности реакции взаимодействия антиген-антитело. Методы определения аффинности антител: равновесный диализ, фракционное осаждение, флуоресцентные методы. 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.

### **4. ФЕРМЕНТНЫЕ МЕТКИ В ИММУНОАНАЛИЗЕ**

**Свойства ферментов.** Основные понятия и термины, используемые в энзимологии. Физико-химические и каталитические свойства ферментов. Кинетические закономерности протекания ферментативных реакций. Экспериментальные методы определения ферментативной активности.

**Критерии выбора ферментных меток.** 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.

### **5. ПОЛУЧЕНИЕ РЕАГЕНТОВ ДЛЯ ИФА**

**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. Хранение антисывороток. Тестирование антисывороток.

**Моноклональные антитела.** Получение гибридом. Использование моноклональных антител в иммуноанализе.

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-носителей для получения антител; получение конъюгатов фермент-белок; получение конъюгатов гаптен-фермент; получение конъюгатов антигенов (антител) с субстратами.

## **6. МЕТОДЫ ИФА**

**Общая классификация методов ИФА.** Анализ типа 1 и анализ типа 2; конкурентные и неконкурентные, гетерогенные и гомогенные, твердофазные и гомогенно-гетерогенные методы анализа.

**Гетерогенные методы ИФА антигенов и антител.** Методы, основанные на определении специфических иммунных комплексов (тип 1); конкурентные и неконкурентные методы, основанные на определении оставшихся свободными центров специфического связывания (тип 2). Методы гетерогенного ИФА, основанные на нековалентном способе введения ферментной метки. Твердофазный ИФА в проточных системах. Новые подходы в гетерогенном ИФА.

**Гомогенные методы ИФА.** Методы анализа антигенов, основанные на использовании меченных ферментом антигенов; методы ИФА антигенов, основанные на использовании неферментных меток.

**Люминесцентный иммуноанализ.**

Направления и перспективы развития ИФА.

## **7. МЕТОДЫ ПРЕДСТАВЛЕНИЯ И ОБРАБОТКИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ДАННЫХ**

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

**УЧЕБНО-МЕТОДИЧЕСКАЯ КАРТА УЧЕБНОЙ ДИСЦИПЛИНЫ**  
**(Очная форма получения образования)**

| Номер раздела, темы | Название раздела, темы                                                                                                                                      | Количество аудиторных часов |                      |                     |                      |      | Количество часов УСР | Форма контроля знаний         |
|---------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------|----------------------|---------------------|----------------------|------|----------------------|-------------------------------|
|                     |                                                                                                                                                             | Лекции                      | Практические занятия | Семинарские занятия | Лабораторные занятия | Иное |                      |                               |
| 1                   | <b>Введение</b>                                                                                                                                             | 2                           |                      |                     |                      |      |                      |                               |
| 2                   | <b>Структура и свойства антигенов и антител</b>                                                                                                             | 2                           |                      |                     |                      |      |                      |                               |
| 3                   | <b>Физико-химические закономерности взаимодействия антиген-антитело</b>                                                                                     | 2                           |                      |                     |                      |      | 2                    | Письменная контрольная работа |
| 4                   | <b>Ферментные метки в иммуноанализе</b><br>Свойства ферментов<br>Критерии выбора ферментных меток                                                           | 2<br>2                      |                      |                     |                      |      |                      |                               |
| 5                   | <b>Получение реагентов для ИФА</b><br>Получение антител<br>Моноклональные антитела                                                                          | 2<br>2                      |                      |                     | 4                    |      |                      | Устный опрос                  |
| 6                   | <b>Методы ИФА</b><br>Общая классификация методов ИФА<br>Гетерогенные методы ИФА антигенов и антител<br>Гомогенные методы ИФА<br>Люминесцентный иммуноанализ | 2<br>4<br>2<br>2            |                      |                     | 8                    |      | 2                    | Письменная контрольная работа |
| 7                   | <b>Методы представления и обработки экспериментальных данных</b>                                                                                            | 4                           |                      |                     | 4                    |      |                      | Устный опрос                  |

**УЧЕБНО-МЕТОДИЧЕСКАЯ КАРТА УЧЕБНОЙ ДИСЦИПЛИНЫ**  
**(Заочная форма получения образования)**

| Номер раздела, темы | Название раздела, темы                                                  | Количество аудиторных часов |                      |                     |                      |      | Количество часов УСР | Форма контроля знаний |
|---------------------|-------------------------------------------------------------------------|-----------------------------|----------------------|---------------------|----------------------|------|----------------------|-----------------------|
|                     |                                                                         | Лекции                      | Практические занятия | Семинарские занятия | Лабораторные занятия | Иное |                      |                       |
| 1                   | <b>Введение</b>                                                         | 2                           |                      |                     |                      |      |                      |                       |
| 2                   | <b>Структура и свойства антигенов и антител</b>                         | 2                           |                      |                     |                      |      |                      |                       |
| 3                   | <b>Физико-химические закономерности взаимодействия антиген-антитело</b> | 2                           |                      |                     |                      |      |                      |                       |
| 4                   | <b>Ферментные метки в иммуноанализе</b>                                 |                             |                      |                     |                      |      |                      |                       |
|                     | Свойства ферментов                                                      | 2                           |                      |                     |                      |      |                      |                       |
|                     | Критерии выбора ферментных меток                                        | 2                           |                      |                     |                      |      |                      |                       |
| 5                   | <b>Получение реагентов для ИФА</b>                                      | 2                           |                      |                     |                      |      |                      |                       |
| 6                   | <b>Методы ИФА</b>                                                       |                             |                      |                     |                      |      |                      |                       |
|                     | Общая классификация методов ИФА                                         | 2                           |                      |                     |                      |      |                      |                       |
|                     | Гетерогенные методы ИФА антигенов и антител                             | 2                           |                      |                     | 4                    |      |                      | Устный опрос          |
|                     | Гомогенные методы ИФА                                                   | 2                           |                      |                     |                      |      |                      |                       |
| 7                   | <b>Методы представления и обработки экспериментальных данных</b>        | 2                           |                      |                     |                      |      |                      |                       |



## **ИНФОРМАЦИОННО-МЕТОДИЧЕСКАЯ ЧАСТЬ**

### **ЛИТЕРАТУРА**

#### **Основная литература**

1. Теория и практика иммуноферментного анализа / А.М. Егоров, А.П. Осипов, Б.Б. Дзантиев, Е.М. Гаврилова – М.: Высшая школа. 1991.
2. Иммунология: В 3-х т. Т.1, 3. Пер. с англ. / Под ред. У. Пола. – М.: Мир. 1989.
3. *Петров Р.В.* Иммунология. Петров Р.В. - М.: Высшая школа. 1993.
4. Иммуноферментный анализ / Под ред. Г.Г. Нго, Г.М. Ленкофф. – М.: Мир. 1988.
5. Иммунологические методы / Под ред. Г. Фримеля. - М.: Медицина. 1987.
6. Новые методы иммуноанализа / Под ред. У. Коллинза. - М.: Мир. 1991.
7. Антитела. Методы. В 2-х кн. / Под ред. Д. Кэтти. – М.: Мир. 1991.

#### **Дополнительная литература**

1. ELISA: Theory and practice / Ed. by John R. Crowther. – Humana Press Inc. 1995.
2. Antibodies. A Laboratory Manual / Ed. by E. Harlow, D. Lane. – Cold Spring Harbor Laboratory. 1988.
3. Иммунологические методы исследований / Под ред. И. Лефковитса, Б. Перниса. – М.: Мир. 1988.
4. Моноклональные антитела / Под ред. Р.Г. Кеннет, Т. Дж. Мак-Керн, К.Б. Бехтол. – М.: Медицина. 1983.
5. Биотехнология. В 8 кн. / Под ред. Н.С. Егорова, В.Д. Самуилова. Кн. 3. Клеточная инженерия – М.: Высшая школа. 1987.
6. Неизотопные методы иммуноанализа // Итоги науки и техники. – М.: ВИНТИ. Сер. Биотехнология. Т.3. 1987.
7. Новые направления в развитии иммунологических методов анализа // Итоги науки и техники. – М.: ВИНТИ. Сер. Биотехнология. Т.24. 1990.

### **ПЕРЕЧЕНЬ ЛАБОРАТОРНЫХ ЗАНЯТИЙ**

(Очная форма получения образования)

- 1) Освоение микропланшетного ридера Multiscan (4 часа).
- 2) Подбор оптимальных условий проведения реакции окисления тетраметилбензидина пероксидазой хрена в микропланшетах и регистрации продуктов реакции с помощью микропланшетного ридера Multiscan (8 часов).
- 3) Определение кинетических параметров окисления тетраметилбензидина пероксидазой хрена (4 часа).

## ПЕРЕЧЕНЬ ЛАБОРАТОРНЫХ ЗАНЯТИЙ

(Заочная форма получения образования)

1) Регистрации продуктов реакции окисления тетраметилбензида пероксидазой хрена с помощью микропланшетного ридера Multiscan (4 часа).

## ПЕРЕЧЕНЬ КОНТРОЛЬНЫХ МЕРОПРИЯТИЙ УПРАВЛЯЕМОЙ САМОСТОЯТЕЛЬНОЙ РАБОТЫ СТУДЕНТОВ

1. Промежуточный зачет по разделу «Физико-химические закономерности взаимодействия антиген-антитело».

2. Промежуточный зачет по разделу «Методы ИФА».

## ПЕРЕЧЕНЬ РЕКОМЕНДУЕМЫХ СРЕДСТВ ДИАГНОСТИКИ

Для текущего контроля качества усвоения знаний студентами рекомендуется использовать следующий диагностический инструментарий:

- защита индивидуальных заданий при выполнении лабораторных работ;
- защита подготовленного студентом реферата;
- письменные контрольные работы по отдельным темам курса;
- компьютерное тестирование.

## МЕТОДИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ ПО ОРГАНИЗАЦИИ САМОСТОЯТЕЛЬНОЙ РАБОТЫ СТУДЕНТОВ

Для организации самостоятельной работы студентов по учебной дисциплине следует использовать современные информационные технологии: разместить в сетевом доступе комплекс учебных и учебно-методических материалов (программа, методические указания к лабораторным занятиям, список рекомендуемой литературы и информационных ресурсов, задания для осуществления самоконтроля и др.).

Эффективность самостоятельной работы студентов целесообразно проверять в ходе текущего и итогового контроля знаний. Для общей оценки качества усвоения студентами учебного материала рекомендуется использование рейтинговой системы.

## СТРУКТУРА РЕЙТИНГОВОЙ ОЦЕНКИ ЗНАНИЙ

Итоговая оценка (минимум 4, максимум 10 баллов) определяется по формуле:

$$\text{Итоговая оценка} = A \times 0,4 + B \times 0,6,$$

где  $A$  – средний балл по лабораторным занятиям и УСР,

$B$  – экзаменационный балл

Итоговая оценка выставляется только в случае успешной сдачи экзамена (4 балла и выше).

## **МЕТОДИКА ФОРМИРОВАНИЯ ИТОГОВОЙ ОЦЕНКИ**

Текущая аттестация по учебной дисциплине проводится в соответствии со следующими нормативными документами:

1) ПРАВИЛА проведения аттестации студентов, курсантов, слушателей при освоении содержания образовательных программ высшего образования, утвержденные Постановлением Министерства образования Республики Беларусь 29.05.2012 № 53;

2) ПОЛОЖЕНИЕ о рейтинговой системе оценки знаний по дисциплине в Белорусском государственном университете, утвержденное Приказом ректора БГУ от 18.08.2015 № 382-ОД;

3) Критерии оценки и компетенций студентов по 10-ти балльной шкале, утвержденные Приказом Министерства образования Республики Беларусь от 22.12.2003 №21-04-1/105.

## ПРОТОКОЛ СОГЛАСОВАНИЯ УЧЕБНОЙ ПРОГРАММЫ УВО

| Название учебной дисциплины, с которой требуется согласование | Название кафедры                           | Предложения об изменениях в содержании учебной программы учреждения высшего образования по учебной дисциплине | Решение, принятое кафедрой, разработавшей учебную программу (с указанием даты и номера протокола) |
|---------------------------------------------------------------|--------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Иммунология                                                   | Микробиологии                              | Отсутствуют<br>Зав. кафедрой<br>Прокулевич В.А.                                                               | Утвердить согласование протокол № 14 от 27 апреля 2017 г.                                         |
| Энзимология                                                   | Биохимии                                   | Отсутствуют<br>Зав. кафедрой<br>Семак И.В.                                                                    | Утвердить согласование протокол № 14 от 27 апреля 2017 г.                                         |
| Иммобилизованные клетки и ферменты                            | Клеточной биологии и биоинженерии растений | Отсутствуют<br>Зав. кафедрой<br>Демидчик В.В.                                                                 | Утвердить согласование протокол № 14 от 27 апреля 2017 г.                                         |

**ДОПОЛНЕНИЯ И ИЗМЕНЕНИЯ К УЧЕБНОЙ ПРОГРАММЕ УВО**  
на \_\_\_\_/\_\_\_\_ учебный год

| №№<br>ПП | Дополнения и изменения | Основание |
|----------|------------------------|-----------|
|          |                        |           |

Учебная программа пересмотрена и одобрена на заседании кафедры  
\_\_\_\_\_ (название кафедры) (протокол № \_\_\_\_ от \_\_\_\_\_ 201\_ г.)

Заведующий кафедрой

\_\_\_\_\_ (ученая степень, ученое звание) \_\_\_\_\_ (подпись) \_\_\_\_\_ (И.О.Фамилия)

**УТВЕРЖДАЮ**  
Декан факультета

\_\_\_\_\_ (ученая степень, ученое звание) \_\_\_\_\_ (подпись) \_\_\_\_\_ (И.О.Фамилия)