

Минобрнауки России
Федеральное государственное бюджетное
учреждение науки
**Федеральный исследовательский центр
«Карельский научный центр
Российской академии наук»
(КарНЦ РАН)**

УТВЕРЖДАЮ

Генеральный директор КарНЦ РАН
член-корр. РАН

О.Н. Бахмет

«*01*» *августа* 20 *22* г.



**РАБОЧАЯ ПРОГРАММА ДИСЦИПЛИНЫ
«ФИЗИОЛОГИЯ И ПАТОЛОГИЯ ИМУННОЙ СИСТЕМЫ»**

**НАУЧНАЯ СПЕЦИАЛЬНОСТЬ
1.5.5. ФИЗИОЛОГИЯ ЧЕЛОВЕКА И ЖИВОТНЫХ**

г. Петрозаводск
2022

РАЗРАБОТЧИКИ ПРОГРАММЫ:

Директор ИБ КарНЦ РАН, главный
научный сотрудник лаборатории
экологической физиологии животных
ИБ КарНЦ РАН, д.б.н., доцент

В.А. Илюха

Старший научный сотрудник
лаборатории генетики ИБ КарНЦ
РАН, к.б.н.

Г.А. Жулай

Пояснительная записка

1. Целью освоения дисциплины является подготовка исследователей, иммунологов высокой квалификации с учетом требований государственных стандартов. Последние годы ознаменовались крупными открытиями в области теоретической и практической иммунологии и аллергологии, что позволило сформировать новые подходы к изучению физиологии иммунной системы, механизмов взаимодействия и функционирования лимфоидных клеток, к диагностике заболеваний, в основе которых лежат иммунопатологические процессы. Разработаны новые клеточные и молекулярные методы иммунологических исследований. Получены фундаментальные данные по этиологии и патогенезу некоторых форм первичных иммунодефицитов, выявлены новые гены, ответственные за развитие аллергии и разработаны современные методы диагностики. Эти достижения создали реальную базу для более глубокого изучения клеточных и молекулярных механизмов развития иммунного ответа, поддержания иммунологической толерантности, гомеостаза клеточных популяций, становления функций иммунной системы в онтогенезе, выявления и лечения иммунных патологий с использованием новых клеточных технологий. Поэтому целью освоения данной дисциплины является подготовка квалифицированных кадров, способных решать эти задачи.

2. Место дисциплины в структуре основной образовательной программы

Обязательная для изучения дисциплина, направленная на сдачу кандидатского экзамена по научной специальности 1.5.5. Физиология человека и животных. Период освоения – 3 семестр.

Перечень компетенций выпускника аспирантуры, на формирование которых направлено освоение дисциплины

Способность генерировать теоретические знания и осваивать современные методы фундаментальных и прикладных исследований в области физиологии человека и животных.

3. Требования к уровню подготовки аспиранта, завершившего изучение данной дисциплины

Аспиранты, завершившие изучение данной дисциплины, должны

иметь представление:

- о физиологии иммунной системы,
- о структурной организации и функциях иммунной системы,
- о механизмах поддержания гомеостаза как основной функции иммунной системы
 - о взаимодействии с другими физиологическими системами организма

знать:

- закономерности развития иммунного ответа
- структуру и функции клеточных популяций
- молекулярно-генетические механизмы сохранения иммунной толерантности
- причины развития иммунных патологий

владеть:

- современными методами иммунологических исследований,
- основными методами оценки иммунного статуса,
- методами статистического анализа результатов исследований.

4. Объем дисциплины и виды учебной работы

Общая трудоемкость дисциплины составляет 4 зачетные единицы (144 часа).

Вид учебной работы	Объем часов / зачетных единиц
Обязательная аудиторная учебная нагрузка	72/2
в том числе:	
лекции	18/0,5
практические занятия	36/1
семинары	18/0,5
Самостоятельная работа аспиранта (всего)	72/2
Всего:	144/4
Вид контроля по дисциплине	зачет

5. Содержание дисциплины:

5.1 Наименование и содержание тем лекционных занятий:

№ п/п	Наименование тем лекционных занятий и их содержание	Кол-во час.
1.	Введение в иммунологию. Предмет и задачи иммунологии. Физиологические защитные системы организма. Определение иммунитета. Защита от инфекций. Клеточный и гуморальный иммунитет. Функциональная организация иммунной системы. Органы и клетки иммунной системы. Ключевая роль тимуса. Филогенез и онтогенез иммунной системы. Врожденный и адаптивный иммунитет. Понятие об антигенах. Виды антигенов: полноценные антигены, гаптены, полугаптены. Чужеродность, специфичность и иммуногенность.	1
2.	Врожденный иммунитет. Неспецифические факторы защиты организма. Миелоидные клетки. Нейтрофилы, эозинофилы, моноциты, макрофаги, дендритные клетки, тучные клетки. Распознавание чужого. Toll-подобные рецепторы. Лектиновые рецепторы. Молекулы адгезии и хемокины. Фагоцитоз. Клетки фагоцитарной системы. Опсонизация. Стадии фагоцитоза. Факторы бактерицидности. Система комплемента. Компоненты системы комплемента и их функции. Альтернативный и классический пути активации комплемента; регуляция системы комплемента. С-реактивный белок и другие белки острой фазы воспаления. Нормальные киллеры (ЕКК). Контактный цитоллиз и его стадии. Провоспалительные цитокины. Противовирусное действие интерферонов. Иммунология слизистых.	2
3.	Адаптивный иммунитет. Структура и функция иммунной системы. Развитие Т-лимфоцитов. Иммунокомпетентные клетки и их роль в иммунном ответе. Поддержание гомеостаза. Т-	1

	клеточная система иммунитета: происхождение, дифференцировка Т-лимфоцитов в тимусе; позитивная и негативная селекция тимоцитов. Эпителиальные клетки тимуса. Формирование толерантности. Гетерогенность и специфичность. Популяции и субпопуляции Т-лимфоцитов. Антиген-распознающие рецепторы Т-лимфоцитов (TCR-) и антиген-индуцированная активация и экспансия Т-лимфоцитов. Дифференцировка Т-хелперов: Th1 и Th2. Молекулярные маркеры (CD-маркеры) и рецепторы. Первичные иммунодефициты с дефектами Т-системы.	
4.	Развитие В-лимфоцитов человека. Происхождение, стадии дифференцировки В-лимфоцитов в костном мозге; рецепторы В-лимфоцитов; молекулярные маркеры дифференцировки В-лимфоцитов; антиген-индуцированная активация пролиферации и дифференцировки В-клеток в зародышевых центрах. Основные субпопуляции В-лимфоцитов. Дифференцировка плазматических клеток. Синтез иммуноглобулинов. Первичные иммунодефициты с дефектами В-системы.	2
5	Имуноглобулины. Классификация, структура и функции. Гетерогенность иммуноглобулинов. Изотипы, аллотипы, идиотипы. Биологическая активность антител разных классов и субклассов. Биосинтез и метаболизм иммуноглобулинов. Генетический контроль синтеза иммуноглобулинов и полиморфизмом антител. Гены иммуноглобулинов. VDJ-рекомбинация ДНК. Переключение изотипов. Механизм генерации разнообразия антител. Перестройка V-генов. Гипермутагенез V генов - дополнительный механизм генерации разнообразия. Аффинность антител. Моноклональные антитела. Патологии с недостаточностью синтеза иммуноглобулинов. Агаммаглобулинемия.	1
6	Процессинг и презентация антигена. Антигенпрезентирующие клетки. Дендритные клетки. Расщепление антигена. Протеасомы. Номинальный антиген. Главный комплекс гистосовместимости человека /HLA/. Генетический полиморфизм МНС. Основные классы МНС, их структура и функции. Механизм образования комплексов МНС молекул с пептидами-антигенами. Транспортные молекулы ТАР-1 и ТАР-2. Калнексин обеспечивает частичный фолдинг МНС молекул. Каждый конкретный аллельный вариант МНС связывает пептиды с одинаковыми якорными остатками. Молекулы адгезии. Хемотаксис.	2
7	Распознавание антигена. Антигенраспознающие рецепторы лимфоцитов: иммуноглобулины и Т-клеточные рецепторы (TCR). Строение переменных доменов. Формирование генов рецепторов лимфоцитов. Эпитопы. Комплекс CD3. Корцепторы Т-лимфоцитов. Двойное распознавание. Иммунологический синапс: механизмы формирования и структура. Активация лимфоцитов. Сигнальные каскады. Транскрипционные факторы. Молекулы костимуляции. Дифференцировка и активация антигенспецифических клонов Т- и В-лимфоцитов. Пути	1

	активации иммунной системы зависят от свойств антигена. Механизмы развития и проявления гиперчувствительности. Роль наследственных и внешних факторов в развитии аллергии.	
8	Типы иммунного ответа. Клеточный иммунный ответ – воспалительный и цитотоксический варианты. Образование иммунных эффекторных Т-лимфоцитов (ЦТЛ, Th1, Th2). Механизмы цитолиза. Индукция апоптоза. Воспалительный Т-клеточный иммунный ответ. Специфические Th1-клетки и макрофаги. Иммунное воспаление. Гранулема. Гуморальный иммунный ответ. Синтез специфических иммуноглобулинов и созревание аффинитета в ходе иммунного ответа. Переключение изотипов в процессе развития иммунного ответа. Иммунный ответ против бактерий, вирусов, простейших. Противоопухолевый иммунитет. Эффекторные механизмы. Избегание опухоли иммунного надзора.	2
9	Система цитокинов. Классификация и основные свойства цитокинов. Интерлейкины, интерфероны: происхождение, рецепция, иммунобиологическая активность. Провоспалительные цитокины TNF- α , IL-1, IL-6, IL-17, IL-18 и их антагонисты TGF- β , IL-10, IL-4. Прямая противовирусная активность интерферонов. Интерферон γ – регулятор адаптивного иммунного ответа. Цитокиновая сеть. Пептиды тимуса и их роль в норме и патологии. Гуморальные факторы костного мозга.	1
10	Контроль и регуляция иммунного ответа. Генетический контроль иммунного ответа. Влияние эндокринной и нервной систем. Основные факторы регуляции. Регуляторные клетки (Т-, В-, NKT-). Естественные и адаптивные регуляторные Т-клетки. Предотвращение аутоиммунного процесса и ограничение иммунного ответа. Первичный и вторичный иммунный ответ. Иммунологическая память. Т- и В-клетки памяти. Идиотипические сети. Иммунологическая толерантность. Механизмы формирования толерантности к аутоантигенам и пищевым антигенам. Причины нарушения ауто толерантности. Иммунопатогенез аутоиммунных заболеваний. Генетические аспекты. Иммунитет в аллогенных системах. Гистосовместимость тканей. Трансплантационный иммунитет. Трансплантация костного мозга. Реакция трансплантат против хозяина. Циклоспорин А.	2
11.	Онтогенез иммунной системы. Возрастные особенности иммунного статуса. Иммунитет в ранние периоды онтогенеза. Старение иммунной системы. Иммунодефициты. Первичные и вторичные иммунодефициты, генетические и иммунологические аспекты Физиологические иммунодефициты. Стрессы, возрастные иммунодефициты. Экологические факторы. Иммунологическая недостаточность. Иммунодиагностика. Оценка состояния врожденного иммунитета. Оценка состояния адаптивного иммунитета. Иммунотерапия. Иммунопрофилактика.	1
12	Современные методы в иммунологии. Понятие о гибридомах. Моноклональные антитела. Фенотипирование. Проточная цитометрия. Трансфекция гена. Клонирование. Трансгенные животные. Нокаут генов. РНК-интерференция.	2

	Иммуноферментный анализ. Сортинг клеток.	
	Итого часов/зачетных единиц:	18

5.2 Содержание практических занятий:

№ п/п	Наименование тем практических занятий	Кол-во час.
1.	<p>Ознакомление с методами выделения лимфоцитов периферической крови:</p> <ul style="list-style-type: none"> -подготовка необходимых реактивов -забор проб с использованием антикоагулянтов, -режимы центрифугирования, -подбор оптимальных условий лизиса эритроцитов, -отделение лейкоцитов крови -выделение лимфоцитов методом градиентного центрифугирования: -наслаивание плазмы крови на градиент плотности фиколл/перколл -отмывание клеток центрифугированием. -подсчет клеток - получение необходимого количества клеток 	6
2.	<p>Ознакомление с методом проточной цитометрии и освоение работы с цитометром:</p> <ul style="list-style-type: none"> -устройство и принцип работы цитометра Cytomics FC-500 -подготовка реагентов -подготовка проб для фенотипирования -подбор оптимальных условий для подсчета флуоресценции - необходимые контрольные замеры - подбор оптимальных сочетаний разных флуорохромов - анализ результатов - освоение программного обеспечения цитометра - правила ухода и консервации анализатора 	12
3	<p>Ознакомление и освоение метода полимеразной цепной реакции (ПЦР):</p> <ul style="list-style-type: none"> -подготовка проб - выделение нуклеиновых кислот из клеток крови - определение чистоты полученных образцов нуклеиновых кислот - устройство и принцип работы системы ICycler iQ5 для проведения ПЦР -количественная оценка уровня экспрессии генов в исследуемом материале - освоение программного обеспечения прибора - анализ результатов 	9

4	<p>Ознакомление и освоение иммуноферментного анализа (ИФА)</p> <ul style="list-style-type: none"> - знакомство с разными вариантами постановки ИФА - использование ИФА для определения уровня антител, антигена, цитокинов в биологических жидкостях - подготовка фотометра к работе, подбор фильтров - подготовка реагентов - подготовка проб для исследования - анализ результатов 	9
	Итого часов/зачетных единиц:	36

5.3 Содержание семинарских занятий:

№ п/п	Наименование тем семинарских занятий	Кол-во час.
1.	Первичные и вторичные иммунодефициты. Иммунологическая недостаточность. Иммунитет и стресс.	2
2.	Тимус. Эпителиальные клетки-няньки. Позитивная и негативная селекция. Поддержание антигенного гомеостаза. Циркуляция лимфоцитов.	2
3.	Процессинг, презентация и распознавание антигена.	2
4.	Главный комплекс гистосовместимости. HLA-антигены.	2
5	Регуляторные клетки. Естественные (nTreg) и адаптивные (aTreg).	
5.	Иммунная система и опухоли.	2
6	Аутоиммунные процессы. Социально-значимые заболевания.	2
7	Регуляция иммунного ответа. Иммунологическая память. Идиотипические взаимодействия.	2
8	Трансплантация органов и тканей.	2
9	Трансгенные животные. Клонирование.	2
	Итого часов/зачетных единиц:	18/0,5

6. Самостоятельная работа аспиранта

№ п/п	Вид и наименование тем самостоятельной работы	Кол-во час.
1.	Подготовка к устному опросу на тему: «Иммунная система и инфекции».	8
2.	Подготовка к семинару-дискуссии на тему: «Взаимодействие клеток в иммунном ответе»	10
3.	Подготовка к семинару-дискуссии на тему: «Супрессия иммунного ответа»	10
4.	Подготовка к семинару-конференции на тему: «Эффекторные механизмы иммунитета»	10

5.	Подготовка к семинару-дискуссии на тему: «Иммунокоррекция. Перспективы развития клеточных технологий»	10
6.	Подготовка к контрольной работе на тему: «Старение и иммунитет»	8
7.	Подготовка к устному опросу на тему: «Иммунная система и адаптация к условиям окружающей среды»	8
8.	Подготовка к устному опросу на тему: «Генетический полиморфизм главного комплекса гистосовместимости »	8
Итого часов/зачетных единиц:		72/2

7. Учебно-методическое и информационное обеспечение дисциплины

7.1. Основная и дополнительная литература

а) основная литература (в лаборатории, каб 304):

1. Ярилин А.А. Иммунология: учебник / А.А. Ярилин. – М.Ж ГОЭТАР-Медиа, 2010. – 752 с.: ил.
2. Ройт А., Бростофф Дж., Мейл Д. иммунология. Пер. с англ. – М.: Мир, 2000. – 592 с., ил.
3. Хайтов Р.М., Игнатъева Г.А., Сидорович И.Г. М. Иммунология: Учебник. – М.: Медицина, 2000. – 432 с.: ил.
4. Тотолян А.А., Фрейдлин И.С. Клетки иммунной системы. – Спб.: Наука, 2000. – 231 с.
5. Галактионов В.Г. Иммунология: Учебник. – М.: Нива России, 2000. – 488 с.: ил.
6. Клиническая иммунология. Руководство для врачей / Под ред. Акад. РАМН Е.И. Соколова.– М.: Медицина, 1998. – 272 с.: ил.
7. Петров Р.В. Иммунология. – М.: Медицина, 1983, 368 с.
8. Сучков С.В. Англо-русский словарь по иммунологии и иммуногенетике. Ок. 15000 терминов / Под ред. Акад. Р.В. Петрова. – М.: Рус.яз., 1990. – 434 с.
9. Ляшенко В.А., Воробьев А.А. Молекулярные основы иммуногенности антигенов. – М.: Медицина, 1982 г. – 272 с.: ил.
10. Галактионов В.Г. Иммунологический словарь: Учеб. Пособие для студ. высш. учеб. заведений /В.Г. Галактионов. – М.: «Академия». – 2005. – 160 с.

б) дополнительная литература (в лаборатории, каб 304):

1. Alexey V. Churov, Eugenia K. Oleinik, Mikael Knip. MicroRNAs in rheumatoid arthritis: Altered expression and diagnostic potential // Autoimmunity Reviews. –2015. – doi: 10.1016/j.autrev.2015.07.005.
2. Чуров А.В. Регуляторные Т-клетки и старение организма // Успехи геронтологии. – 2013. – Т.26. – № 4. – С. 603 – 609.
3. Кудрявцев И.В., Хайдуков С.В., Зурочка А.В., Черешнев В.А. Проточная цитометрия в экспериментальной биологии. Екатеринбург: РИО УрО РАН, 2012, 192 с.
4. Зурочка А.В., Долгушин И.И., Квятковская С.В., Рябова Л.В. Латентная сенсibilизация. Уро РАН. – Челябинск, 2005. – 181 с.
5. Зурочка А.В., Черешнев В.А., Усова Ю.А. Базофилы. Латентная сенсibilизация Екатеринбург: Уро РАН, 2012.

6. Практикум по иммунологии: Учеб. пособие / Под ред. И.А. Кондратьевой, В.Д. Самуилова. – М.: Изд-во МГУ, 2001. – 224 с.

в) электронные ресурсы (на диске в лаборатории, каб 304, 11 файлов)

1. Abbas A.K., Lichtman A.H., Pillai S. Cellular and molecular Immunology. 6-th ed., Saunders Elsevir: 2007, 566 p.
2. Elsevier's dictionary of medicine and biology. Ed.: Konstantinidis G. Elsevier: 2005, 1763 p.
3. Fundamental Immunology. Edit.: Paul W.E. 6-th ed., Walter Kluwer: 2008, 1552 p.
4. Illustrated dictionary of Immunology. Ed.: Cruse J.M., Lewis R.E. 3-rd-ed., CRC-Press, 2009, 801 p.
5. Janeway Ch. A., Travers P., Walport M., Shlomchik M. Immunobiology. 5-th ed., 2004, 732 p.
6. Medical Biomethods handbook. Ed.: Walker J.M., Rapley R. Human Press: 2005, 644 p.
7. Medical Immunology Ed.: Virella G. 5-th ed., Marcel Dekker: 2001, 656 p.
8. T-cell activation by CD1 and lipid antigens. Ed.: Moody D.B. Springer: 2007, 345 p.
9. The chemokine receptors. Ed.: Harrison J.K., Lukacs N.W. Human Press: 2007, 403 p.
10. Toll-like Receptors (TLRs) and innate immunity. Ed.: Bauer S., Hartman G. Springer: 2008, 240 p.
11. Tumor Immunology. Ed.: Parmiani G., Lotze M.T. Taylor: 2005, 207 p.

Для аспирантов и педагогического состава по научной специальности «Физиология человека и животных» в ИБ КарНЦ РАН обеспечен свободный доступ к электронным научным информационным ресурсам, электронным библиотекам и зарубежным издательствам системе он-лайн доступа:

Электронная научная библиотека eLIBRARY.RU

[режим доступа: <http://elibrary.ru/defaultx.asp>]

Библиотека по естественным наукам РАН

[режим доступа: <http://www.benran.ru/>]

Электронная научная библиотека Wiley Online Library

[режим доступа: <http://onlinelibrary.wiley.com/>]

Электронная научная библиотека издательства Springer

[режим доступа: <http://www.springer.com/gp/>]

Электронная научная библиотека издательства Elsevier

[режим доступа: <http://www.elsevier.com/>]

Библиографическая и реферативная база данных Scopus

[режим доступа: <http://www.scopus.com/>]

Национальная библиотека Республики Карелия

[режим доступа: <http://library.karelia.ru/>]

Библиотечный фонд лаборатории экологической физиологии животных и группы иммунологии ИБ КарНЦ РАН укомплектован тематическими энциклопедиями, отраслевыми словарями и справочниками, монографиями, учебниками, учебно-методическими пособиями, периодическими изданиями, сборниками конференций, реферативными изданиями, диссертациями, авторефератами и другими изданиями из расчета 1 экземпляр каждого издания основной и дополнительной литературы на 1-2 обучающихся.

Лаборатория экологической физиологии животных и лаборатория генетики

обеспечена необходимым комплектом **лицензионного программного обеспечения** для подготовки аспирантов по профилю «Физиология». Обеспеченность лицензионными программными продуктами Windows и MS Office составляет – 100 %. Для обучения аспирантов используются также следующие лицензионные программные продукты:

Access 2010 Russian Open License Pack NoLevel Academic Edition – программа для работы с базами данных;

Системы анализа изображений “ВидеоТесТ 4.0” и “ВидеоТесТ-Морфология 5.2” – программы для обработки изображений, полученных с микроскопов (в комплектации с оборудованием).

Пакет программного обеспечения для создания и поддержки генетических баз данных Fingerprinting II Informatix (Bio-Rad, США).

Пакет программного обеспечения для конструирования олигонуклеотидных зондов Primer Premier 5.0 и Beacon Designer 8.

Программное обеспечение в комплекте с научным хроматографическим и спектрофотометрическим оборудованием.

Используются созданные в Карельском научном центре РАН (КарНЦ РАН) телекоммуникационные сети и информационные технологии.

8. Материально-техническое обеспечение

ИБ КарНЦ РАН располагает материально-технической базой, соответствующей действующим правилам охраны труда, противопожарной и экологической безопасности, санитарным нормам и обеспечивающей проведение всех видов учебных занятий, предусмотренных учебным планом.

Кабинет для проведения лекционных, семинарских занятий, групповых и индивидуальных консультаций, экзаменов, зачетов и аттестаций (пр. А. Невского, 50, каб 210) укомплектован специализированной мебелью и техническими средствами обучения, служащими для представления информации средней аудитории, в т.ч. оборудован экраном и мультимедийной системой для презентаций.

Материально-техническое обеспечение, необходимое для реализации программы аспирантуры включает в себя современную приборную базу и лабораторное оборудование структурных подразделений – лаборатории экологической физиологии животных и лаборатории генетики (в т.ч. оборудование ЦКП КарНЦ РАН).

Помещения для самостоятельной работы обучающихся оснащены компьютерной техникой с подключением к сети «Интернет», лицензионным программным обеспечением и доступом в электронную информационно-образовательную среду ИБ КарНЦ РАН. Рабочие места аспирантов более чем на 100 % укомплектованы персональными компьютерами с выходом в сеть «Интернет». В структурных подразделениях имеются ксероксы, принтеры и сканеры.

Приборная база, используемая для подготовки аспирантов

1) Система для цитоморфологических и цитохимических исследований органов и тканей - используется для морфо-функциональной характеристики клеток крови, а также цитохимической характеристики тканей.

Автоматизированное рабочее место на базе микроскопа Axioskop 40 (Zeiss) с системой анализа изображений “ВидеоТесТ 4.0” и Автоматизированное рабочее место на базе микроскопа Axio Scope.A1 (Zeiss) с пакетами программ Axio Vision и системой анализа изображений “ВидеоТесТ-Морфология 5.2”. Позволяют проводить микроскопирование объектов при различном увеличении образцов в проходящем свете, захвата изображений, подготовки баз данных с изображениями, а также морфометрического анализа компьютерных изображений в ручном и автоматическом режимах.

Микроскоп лабораторный инвертированный «БиОптик серии ВІ-200». Применяется для работы при культивировании клеток, экспериментами с мечеными белками и др научных исследований. Подходит для работы с тканевыми культурами.

2) Комплекс оборудования для иммунологического анализа

Оборудование для определения фенотипических и функциональных характеристик лимфоцитов и изучения клеток иммунной системы

Проточный цитометр CУТОMІCS FC-500 (Beckman Coulter, США) с программным обеспечением СХР. Прибор относится к классу самых современных автоматических анализаторов клеток. Предназначен дл определения уровня экспрессии мембранных и внутриклеточных маркерных молекул, транскрипционных факторов и рецепторов лимфоидных клеток. Используется для определения пролиферативного потенциала клеток, фаз клеточного цикла.

Станция пробоподготовки “Coulter PrepPlus 2” и система автоматического лизирования “TQ-Prep” (Beckman Coulter, США), совместимые с проточным цитометром “FC500”, позволяют стандартизировать подготовку образцов на высоком уровне автоматизации.

Ламинарный бокс КОJAIR (Финляндия). Используется при выполнении всех работ с клетками и клеточными культурами, требующих стерильных условий.

3) Комплекс оборудования для проведения полимеразной цепной реакции в режиме реального времени (РВ-ОТ-ПЦР) и классической полимеразной цепной реакции совмещенной с обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР) на базе лаборатории генетики, в том числе:

Система определения ПЦР в реальном времени ICycler iQ5 (Bio-Rad). Система предназначена для проведения полимеразной цепной реакции (ПЦР) с регистрацией продуктов реакции в режиме реального времени. Методика ПЦР в реальном времени является наиболее передовой технологией ПЦР, поскольку позволяет осуществлять количественную оценку уровня экспрессии генов в исследуемом материале. Система позволяет оценить уровень экспрессии гена, провести скрининг точковых мутаций и провести «мультиплексную» ПЦР, что позволяет детектировать в одной пробирке одновременно несколько продуктов ПЦР.

Система iQ5– принадлежит к новому поколению приборов ПЦР в реальном времени. Преимуществом данного оборудования является высокая специфичность, чувствительность, универсальность и автоматизация регистрации результатов, что дает быстроту и качество результатов исследования.

Амплификатор MaxyGene Gradient (AxyGene) обеспечивает электрический нагрев и охлаждение фрагментов ДНК и изменение химического состава веществ. Предназначен для проведения полимеразной цепной реакции. На любой стадии программы можно установить градиент до 24°C слева направо через рабочий блок, при этом скорость нагрева/охлаждения может находиться в пределах до 3°C/2°C в секунду. Фиксация микропланшетов или пробирок на термоблоке осуществляется с помощью нагреваемой верхней крышки. Её использование устраняет необходимость использования масла и гарантирует равномерность контакта с блоком.

Амплификатор (термоциклер) MaxyGene II Therm-1000. Предназначен для амплификации нуклеиновых кислот с использованием полимеразной цепной реакции. Обеспечивает определенное количество термоциклов (попеременные нагрев и охлаждение). Может применяться для постановки любой циклической температурной реакции.

Амплификатор С1000 в комплекте с модулем реакционным оптическим CFX96. Для проведения ПЦР с возможностью регистрации продуктов реакции в режиме реального времени Решаемые задачи: • ПЦР в реальном времени (до 5 красителей в одной пробирке); •

ПЦР с анализом по конечной точке; • ПЦР без анализа результатов; Подбор оптимальной температуры проведения ПЦР.

Амплификатор (термоциклер) T100. Предназначен для амплификации нуклеиновых кислот с использованием полимеразной цепной реакции. Прибор позволяет определение оптимальных параметров реакции благодаря функции температурного градиента; быстрое и удобное управление с помощью большого сенсорного дисплея. Термоциклер оснащен таймером обратного отсчёта с крупными и контрастными цифрами, хорошо видимыми с большого расстояния, для определения времени до конца реакции. Нагреваемая крышка позволяет проводить ПЦР без использования минерального масла. Амплификатор T100 зарегистрирован на территории Российской Федерации и внесен в Государственный реестр изделий медицинского назначения и медицинской техники.

Система генетического анализа SEQ 8000. Система генетического анализа позволяет надежно автоматически секвенировать ДНК, проводить анализ фрагментов, оценку генетического разнообразия, позволяют выявить различия в последовательности с точностью до одного нуклеотида, помогает идентифицировать ее кодирующую область, выявить точечные (генные) мутации, с которыми связаны метаболические и иммунодефицитные заболевания животных и человека, пигментные мутации у растений, идентифицировать аллели.

Система Areol и CytoVision Areol SL-50. Система позволяет анализировать препараты в белом свете, а также исследовать образцы с помощью методов флуоресценции. Прибор быстро сканирует образец и определяет количество биомаркеров при иммуногистохимических, иммунофлуоресцентных пробах, в реакции флуоресцентной гибридизации in situ (FISH). CytoVision дает возможность быстро сканировать образец, находить клетки в метафазе, проводить кариотипирование, анализировать результаты флуоресцентной гибридизации in-situ (FISH), многоцветной флуоресцентной гибридизации in-situ (M-FISH), многоцветного бэндинга хромосом (RxFISH).

Оборудование для выделения нуклеиновых кислот (в стерильных условиях): Стерильный ламинарный шкаф СЛШ-МЗ (бокс) 2 А класса безопасности (АМС МЗМО, Россия). Оснащен системой очистки воздуха (HEPA фильтр), рабочая зона внутри стерильного ламинарного шкафа обеззараживается УФ лампой. Используется на стадии выделения нуклеиновых кислот и подготовки проб для ПЦР.

ПЦР-бокс W4879 (Sigma, США) – предназначен для организации изолированного от внешней среды пространства при проведении работ с использованием полимеразной цепной реакции.

Стерильный ламинарный шкаф Kojair (Bioline, Finland) 2 класса безопасности. Оснащен HEPA фильтрами для очистки воздуха, обеспечивающими класс чистоты ISO -5 в соответствии со стандартом ISO -14644-1. Используется на стадии выделения нуклеиновых кислот и подготовки проб для ПЦР.

Центрифуга 5417C (Eppendorf, Германия) (2 шт). Рассчитана на 1,5 мл пробирки (30 проб), максимальная скорость 14000 об/мин. Используется для осаждения в процессе выделения нуклеиновых кислот.

Центрифуга Rotina 35R (Hettich Zentrifugen, Германия). С охлаждением, максимальное число оборотов в минуту: 15000. Используется для осаждения нуклеиновых кислот.

Центрифуга Liston C2201 (Россия) Низкоскоростная настольная центрифуга. Рассчитана на пробирки 10-15 мл. Используется на стадии получения плазмы и фракции лейкоцитов из цельной крови.

Вортекс непрерывного/импульсного режима Bio-Vortex V-1 (Biosan, Латвия) – используется для перемешивания во время процедуры выделения нуклеиновых кислот.

Термостат EchoTherm (Torrey Pines Scientific, США). Диапазон температур 4°C-70°C, есть таймер. Используется для поддержания необходимых температур во время проведения процедуры обратной транскрипции, выделения ДНК, обработки РНК ДНКазой.

Твердофазный термостат «Гном» (ДНК-Технологии, Россия). Программируемый, рассчитан на использование пробирок типа «Эппендорф» объемом 1,5 и 0,5 мл. Диапазон температур от комнатной до 99°C. Используется для поддержания необходимых температур во время проведения процедуры обратной транскрипции, выделения ДНК, обработки РНК ДНКазой.

Спектрофотометр “SmartSpec Plus”, (BioRad, США). Однолучевой, с диапазоном длин волн 200-800 нм. Используется для определения концентраций нуклеиновых кислот (РНК, ДНК, кДНК) и белка. Встроенное программное обеспечение прибора позволяет ему на основании спектральных данных определять концентрацию и степень чистоты нуклеиновых кислот и белков (для этого имеются стандартные встроенные функции).

Низкотемпературный морозильник UF240-86E, вертикальный (Snijders scientific, Нидерланды). Диапазон температур от -60°C до -86°C. Используется для хранения образцов ДНК, РНК, кДНК, а также биологического материала до момента анализа.

Система многоступенчатой очистки воды Milli-Q (Millipore, США). Получение деионизованной, стерильной воды для работы с нуклеиновыми кислотами.

Гомогенизатор MagNALyser (Roche, Германия) Прибор в автоматическом режиме гомогенизирует образцы и разрушает клетки, облегчая процесс получения супернатанта, используемого для последующего выделения и очистки нуклеиновых кислот. В прибор помещаются специальные пробирки, содержащие керамические и стеклянные шарики, исследуемый материал и лизирующие реактивы. Производительность за одну постановку - 16 образцов за несколько минут (до 10 минут). Используется для широкого разнообразия типов обрабатываемых образцов (ткани растений и животных, цельная кровь, клетки крови, пищевые продукты, бактерии, грибы и др). MagNA Lyser проводит гомогенизацию в специальной герметично закрытой пробирке, благодаря чему предотвращает контакт с инфицированным материалом

Пакет программного обеспечения для создания и поддержки генетических баз данных Fingerprinting II Informatix (Bio-Rad, США).

Пакет программного обеспечения для конструирования олигонуклеотидных зондов Primer Premier 5.0 и Beacon Designer 8.

9. Перечень вопросов к зачету

Тема 1. Иммунная система организма человека, структура и физиологические функции. Центральные и периферические органы иммунной системы. Клетки иммунной системы, происхождение, функции.

Тема 2. Дифференцировка Т-лимфоцитов. Основные субпопуляции, CD-маркеры. Антигенраспознающий рецептор Т-лимфоцитов (TCR).

Тема 3. Дифференцировка В-лимфоцитов. Поверхностные иммуноглобулины, основные CD-маркеры. Антигенраспознающий рецептор В-лимфоцитов (BCR).

Тема 4. Естественные киллеры (NK-клетки). Основные CD-маркеры. Механизмы неспецифического цитолиза. Апоптоз.

Тема 5. Антигены. Гаптены. Иммуногенность. Антигенные детерминанты. Аллоантигены, аутоантигены.

Тема 6. Антигены гистосовместимости человека, Структура генов HLA-комплекса. MHC I класса. MHC II класса. Связывание пептидных антигенов..

Тема 7. Процессинг и презентация антигена. Распознавание антигена. Иммунологический синапс. MHC-рестрикция.

Тема 8. Антитела. Основные классы иммуноглобулинов. Структура IgG (H- и L-цепи, V-и C-домены). Функциональные фрагменты мономера (Fc-, Fab-). Активные центры иммуноглобулинов. Аффинность антител.

Тема 9. Синтез антител. Гены иммуноглобулинов. Механизм генерации разнообразия антител. Идiotипы, изотипы, аллотипы.

Тема 10. Клеточный и гуморальный иммунный ответ. Роль Th-1, Th-2. Клетки-эффекторы. Воспаление и цитотоксические реакции.

Тема 11. Основные медиаторы иммунного ответа. Общие свойства цитокинов. Классификация. Цитокиновая сеть.

Тема 12. Первичный и вторичный иммунный ответ. Основные факторы регуляции иммунного ответа. Иммунологическая память. Иммунологическая толерантность. Идiotипические сети.

Перечень тестовых заданий к зачету:

Выбрать правильные варианты и подчеркнуть (* - правильные ответы):

1. MHC I класса

- экспрессируются на мембране всех ядерных клеток*
- экспрессируются только на лимфоцитах
- появляются только на активированных клетках
- относятся локусы HLA-A, HLA-B, HLA-C*
- относятся локусы HLA-DR, HLA-DQ, HLA-DP
- домены $\alpha 1$ и $\alpha 2$ образуют клефт для связывания антигена*
- $\beta 2$ микроглобулин формирует клефт для связывания антигена
- распознается CD4+Т-лимфоцитами
- распознается CD8+ Т-лимфоцитами*
- связывает пептидный антиген внутри клетки*
- связывает пептидный антиген вне клетки

2. MHC II класса

- экспрессируются на мембране всех ядерных клеток*
- экспрессируются только на лимфоцитах
- появляются только на активированных клетках
- относятся локусы HLA-A, HLA-B, HLA-C*
- относятся локусы HLA-DR, HLA-DQ, HLA-DP
- домены $\alpha 1$ и $\alpha 2$ образуют клефт для связывания антигена*
- $\beta 2$ микроглобулин формирует клефт для связывания антигена
- распознается CD4+Т-лимфоцитами

- распознается CD8+ Т-лимфоцитами*
- связывает пептидный антиген внутри клетки*
- связывает пептидный антиген вне клетки

3. Презентация антигена – это

- представление номинального антигена на мембране АПК*
- пептиды из цитозоля образуют комплексы с молекулами МНС I класса*
- пептиды из везикул образуют комплексы с молекулами МНС II класса*
- пептиды самостоятельно могут презентироваться Т-лимфоцитам
- ТАР-1 и ТАР-2 транспортируют пептиды из цитозоля в ретикулум*
- ТАР-1 и ТАР-2 доставляют пептиды для связывания с МНС I класса*
- ТАР-1 и ТАР-2 доставляют пептиды для связывания с МНС II класса
- калнексин обеспечивает частичный фолдинг МНС молекул*
- МНС-1 связывает пептиды длиной 8-10 аминокислотных остатков*
- МНС-2 связывает пептиды длиной 13-17 аминокислотных остатков*
- каждый конкретный аллельный вариант МНС связывает пептиды с одинаковыми якорными остатками*

4. Т-лимфоциты - это

- основные эффекторы клеточного иммунитета*
- основные эффекторы гуморального иммунитета
- вспомогательные клетки иммунной системы
- дифференцируются в тимусе*
- синтезируют Ig-ны
- секретируют цитокины*
- имеют на мембране CD3 молекулу*
- имеют на мембране CD19 молекулу
- могут быть хелперами*
- могут быть киллерами*
- могут быть фагоцитами
- имеют антигенраспознающий рецептор – TCR*

5. В-лимфоциты – это

- основные эффекторы гуморального иммунитета*
- основные эффекторы клеточного иммунитета
- дифференцируются в костном мозге*
- дифференцируются в тимусе
- являются антигенпрезентирующими клетками
- имеют на мембране CD4 молекулу
- имеют на мембране CD20 молекулу*
- имеют на клеточной поверхности антитела*
- секретируют ИЛ-2
- синтезируют Ig-ны*
- имеют антигенраспознающий рецептор – BCR*
- экспрессируют МНС II-класса

6. НК-клетки – это

- основные эффекторы гуморального иммунитета
- эффекторы неспецифического цитолиза*
- могут лизировать опухолевые клетки*
- имеют специфический антигенный рецептор
- относятся к антигенпрезентирующим клеткам
- могут иметь на мембране CD16 молекулу*
- могут иметь на мембране CD56 молекулу*

- эффекторы антителозависимой клеточной цитотоксичности (АЗКЦ)*
- секретируют цитокины (IFN- γ , TNF, IL-5, IL-8)*

7. Процессинг антигена – это

- частичная деградация нативного антигена*
- происходит в дендритных клетках*
- участвуют Т-лимфоциты
- участвуют макрофаги*
- происходит в протеасомах*
- происходит в везикулах*
- происходит выщепление иммунодоминантных сайтов*
- завершается полным уничтожением антигена
- номинальный антиген соединяется с МНС молекулой*

8. Распознавание антигена – это

- взаимодействие TCR с комплексом МНС:пептидный антиген*
- взаимодействие Т-лимфоцита с АПК*
- взаимодействие Т- и NK- клеток
- протеолиз чужеродного антигена в везикулах
- связывание антигена антителами
- CD4+Т-лимфоциты распознают комплекс антиген:МНС II класса*
- CD8+ Т-лимфоциты распознают комплекс антиген:МНС I класса*
- TCR распознает антиген без МНС молекул
- распознавание антигена необходимо для индукции иммунного ответа*
- распознавание приводит к клональной активации лимфоцитов*

9. МНС-молекулы – это

- антигены гистосовместимости*
- иммуноглобулины
- сывороточные белки
- могут вызывать отторжение трансплантата*
- у человека называются HLA*
- отсутствуют на мембране фагоцитов
- отсутствуют на мембране эритроцитов
- связывают процессированный антиген*
- обеспечивают представление антигена Т-лимфоцитам*
- полиморфизм означает наличие множества аллелей одного гена*

10. Иммунный ответ

- развивается без внешних антигенных стимулов
- возникает только на конкретный антиген*
- образуется антигенспецифический клон лимфоцитов-эффекторов*
- синтезируются специфические Ig-ны *
- участвуют только CD4+Th1
- участвуют только CD4+Th2
- может проявляться в форме иммунологической толерантности*
- может проявляться в форме гиперчувствительности*
- остается иммунологическая память об антигене*
- вторичный ответ слабее первичного

11. Иммуноглобулины

- синтезируются В-лимфоцитами*
- синтезируются макрофагами
- специфически связывают антиген*
- способствуют элиминации антигена из организма*
- Ig-ны G синтезируются первыми в иммунном ответе
- аффинность антител снижается в ходе иммунного ответа
- мономер состоит из 4-х полипептидных цепей*
- С-домен отличается высоким структурным разнообразием
- Fab-фрагменты связываются с клеточной мембраной
- Fc-фрагмент имеет антигенсвязывающий центр
- Ig-ны M и A образуют полимерные структуры*

12. Классы иммуноглобулинов

- всего девять
- всего пять*
- изотипы различаются между собой по тяжелым цепям*
- изотипы различаются между собой по легким цепям
- в сыворотке крови больше всего Ig-нов G*
- IgG4 > IgG1
- IgA2 больше на слизистых оболочках*
- IgM проходит через плаценту
- IgD участвует в аллергических реакциях
- IgE – это иммуноглобулин слизистых

13. Гены Ig-нов

- исходно располагаются на расстоянии друг от друга
- рекомбинация ДНК – это процесс объединения сегментов *
- V, D, J, C – это гены H-цепей*
- V, D, J, C – это гены L-цепей
- VDJ-рекомбинация – это объединение сегментов в непрерывную ДНК*
- в рекомбинации участвуют только по одному сегменту из V-областей*
- в рекомбинации участвуют по два сегмента из V-областей
- вариантов V-генов более 50*
- вариантов C-генов более 50
- комбинации разных сегментов из V-, D-, J-областей – основа разнообразия*
- гипермутагенез V-генов - это дополнительный механизм разнообразия*

14. Цитокины

- необходимы для межклеточного взаимодействия в иммунном ответе*
- секретируются только макрофагами
- ИЛ-1 активирует Th0 CD4+ лимфоциты*
- ИЛ-2 активирует Th1 CD4+ лимфоциты*
- ИЛ-2 не активирует Th2CD4+ лимфоциты
- ИНФ-α – самый сильный иммуномодулятор
- ИНФ-γ – обеспечивает основной противовирусный эффект
- ИНФ-γ – стимулирует экспрессию молекул МНС II класса*
- TNF-α – вызывает лизис опухолевых клеток*
- ИЛ-4 – медиатор воспаления

15. Оценка иммунного статуса

- определение мембранных CD маркеров называют фенотипированием*
- для фенотипирования используют моноклональные антитела*

- CD3, CD4, CD8 – активационные маркеры Т-лимфоцитов
- CD25, CD95, HLA-DR – дифференцировочные антигены Т-лимфоцитов
- молекулы HLA-DR всегда есть на мембране В-лимфоцитов*
- проточная цитометрия – это радиоизотопный метод
- полимеразная цепная реакция (ПЦР)- это метод амплификации генов*
- ПЦР используется для определения уровня Ig-нов в сыворотке крови
- кожный тест используется для диагностики гепатита С
- иммунограмма – результат иммуноферментного анализа