

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  
«КЛИНИЧЕСКАЯ ИММУНОЛОГИЯ»**

**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. Основная задача состоит в том, чтобы дать более глубокие знания в области теоретической и практической иммунологии и аллергологии, расширить представления о физиологии иммунной системы новыми знаниями, сформировать новые подходы к изучению все более расширяющегося спектра заболеваний, в основе которых лежат иммунопатологические процессы. В настоящее время получены фундаментальные данные по этиологии и патогенезу иммунодефицитов, клеточным и молекулярным механизмам развития иммунных патологий, выявлены новые гены, ответственные за развитие аллергии, разработаны современные методы диагностики. Эти достижения создали реальную основу для развития клинических аспектов иммунологии, развития новых подходов и эффективных технологий для выявления и лечения иммунных патологий. Поэтому целью освоения данной дисциплины является подготовка квалифицированных кадров, способных сформулировать и решать эти задачи.

### **2. Место дисциплины в структуре основной образовательной программы**

Обязательная элективная дисциплина по выбору аспиранта, направленная на сдачу кандидатского экзамена по научной специальности 1.5.5. Физиология человека и животных. Период освоения – 2 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:

– **знать:**

- современные направления развития клинической иммунологии
- основные группы иммунных патологий человека, принципы их классификации,
- молекулярные и генетические механизмы развития иммунных патологий
- первичную диагностику и симптомы
- новые подходы к иммунной коррекции и иммунореабилитации
- причины все более широкого распространения иммунных патологий

– **уметь:**

- ориентироваться в проблемах, связанных с иммунными патологиями
- использовать методы теоретического и экспериментального исследования для изучения различных аспектов иммунных дисфункций;
- использовать новейшие достижения в области клеточной и молекулярной иммунологии для формулирования и решения исследовательских задач

– **владеть:**

- методами иммунологических исследований, навыками постановки и проведения эксперимента.

### **4. Объем дисциплины и виды учебной работы**

Общая трудоемкость дисциплины составляет 5 зачетных единиц (180 часов), в т.ч.:

Вид учебной работы	Объем часов / зачетных единиц
<b>Обязательная аудиторная учебная нагрузка (всего)</b>	<b>144/4</b>
в том числе:	
лекции	36/1
практические занятия	90/2,5
семинары	18/0,5
<b>Самостоятельная работа аспиранта (всего)</b>	<b>36/1</b>
в том числе:	
подготовка к семинарам	36/1
<b>Всего</b>	<b>180/5</b>
<b>Вид контроля по дисциплине</b>	<b>зачет</b>

## 5. Содержание дисциплины:

### 5.1 Наименование и содержание тем лекционных занятий:

№ п/п	Наименование тем лекционных занятий и их содержание	Кол-во час.
1.	<b><i>Введение в клиническую иммунологию.</i></b> Основные задачи и направления развития клинической иммунологии. Классификация патологических процессов с участием иммунной системы. Общие проявления иммунного дефицита. Генетические дефекты. Системные воздействия окружающей среды (инфекции, стресс, облучение). Аутоиммунные и аллергические реакции. Иммунологический надзор и противоопухолевый иммунитет. Новые проявления иммунологической недостаточности. Причины масштабного расширения круга иммунных патологий.	3
2.	<b><i>Первичные иммунодефициты.</i></b> Генетические основы первичных иммунодефицитов. Классификация: синдромы с дефицитом антител; синдромы с дефицитом Т-лимфоцитов; комбинированные Т- и В-дефициты; синдромы с дефектами фагоцитов и НК-клеток; дефекты системы комплемента; синдромы с дефектами молекул адгезии. Клинико-иммунологическая характеристика первичных иммунодефицитов. Дифференциальный диагноз. Основные принципы лечения (заместительная терапия иммуноглобулинами, трансплантация костного мозга и др.).	3
3.	<b><i>Вторичные иммунодефициты.</i></b> Классификация вторичных иммунодефицитов. Факторы, способствующие развитию вторичных иммунодефицитов (экзогенные и эндогенные); клинико-	3

	иммунологическая характеристика вторичных иммунодефицитов, многообразие проявлений. Принципы и методы диагностики и иммунокоррекции. Иммунореабилитация. Принципы лабораторной диагностики иммунодефицитов.	
4.	<b>Противоинфекционный иммунитет. Инфекции иммунной системы.</b> Антигены микроорганизмов – главные иммуногены. Антигенпрезентирующие клетки: макрофаги, В-клетки, дендритные клетки. Т-хелперы и ключевые цитокины (IL-2, IL-4, IL-5, IL-12). Суперантигены (бактериальные экзотоксины). Поликлональная активация и выброс цитокинов. ВИЧ-инфекция: этиология, эпидемиология и патогенез. Структурная организация ретровируса, его вариабельность. Особенности заражения ВИЧ, пути передачи. Иммунологические сдвиги при ВИЧ-инфекции. Сродство к молекуле CD4 Т-лимфоцитов. Особенности клинического течения разных форм и стадий заболевания. Индикаторные болезни. Диагностика, лечение и профилактика ВИЧ-инфекции.	3
5	<b>Аллергия.</b> Аллергены, их свойства, классификации: белки, гаптены, полисахариды. Гиперчувствительность I –IV типа. Аллергические реакции немедленного типа. Иммуноглобулин E. Клетки-мишени 1-го и 2-го порядка; ранняя и поздняя фаза реакции. Медиаторы тучных клеток и базофилов. Аллергическое воспаление. Феномен Артюса (сывороточная болезнь, экзогенный аллергический альвеолит). Аллергические реакции замедленного типа (Т-зависимые), клинические проявления, патогенез заболеваний, роль цитокинов. Роль генетических факторов в формировании аллергии. Ассоциации с гаплотипом HLA.	6
6	<b>Трансплантация органов и тканей.</b> Типы трансплантатов. Факторы совместимости. МНС-молекулы как суперантигены. Минорные антигены. Механизмы отторжения трансплантата. РТПХ. Пересадки органов и тканей в клинике. Создание банка данных по HLA-гаплотипам. Иммунологически привилегированные ткани и органы. Клинические проявления тканевой несовместимости. Острое и отсроченное отторжение. Эффекторные механизмы иммунного воспаления. Иммуносупрессорная терапия при трансплантации.	3
7	<b>Аутоиммунные патологии.</b> Механизмы развития аутоиммунных процессов. Органоспецифические и системные заболевания. Антигенная мимикрия бактерий и вирусов. Микробные суперантигены. Типы повреждения тканей. Эффекторные механизмы. Антитела, комплемент, CD4+Th1, CD8+ЦТЛ. Гемолитические анемии. Заболевания эндокринной системы, классификация, клинические проявления. Аутоиммунный гипертиреозидизм. Инсулинзависимый диабет. Иммунология болезней нервной системы. Демиелинизирующие заболевания центральной нервной системы. Иммунология заболеваний соединительной ткани (коллагенозы).	4
8	<b>Противоопухолевый иммунитет.</b> Иммунологический надзор и опухоли. Опухолевые антигены. Клетки-эффекторы в противоопухолевом иммунном ответе. Молекулярные основы резистентности опухолевых клеток. Механизмы избегания иммунного контроля. Гипотеза “иммунного редактирования” опухолей. Регуляторные клетки. Опухоль инфильтрирующие Т-лимфоциты. Иммунодиагностика онкологических заболеваний. Маркерные	4

	молекулы. Лимфопролиферативные заболевания. Иммуноterapia.	
9	<b>Оценка иммунного статуса.</b> Уровни обследования: скрининговый и уточняющий. Иммунограмма. Принципы и подходы к чтению иммунограммы. Оценка Т- и В-системы иммунитета: определение числа CD3+, CD4+, CD8+, CD16+, CD19+-клеток периферической крови, определение уровня экспрессии молекул активации: CD25, CD95, HLA-DR. Фенотипирование лимфоцитов. Определение содержания иммуноглобулинов IgA, IgG, IgM, IgE. Обзор современных методов лабораторного исследования.	4
10	<b>Основы иммунотерапии и иммунопрофилактики.</b> Принципы иммунной коррекции. Иммуностимулирующая и иммунодепрессивная терапия. Применение моноклональных антител в иммунотерапии. Заместительная терапия при первичных иммунодефицитах. Экстракорпоральная активация аутологических клеток. Применение цитокинов. Вакцинация – специфическая стимуляция иммунитета.	3
	<b>Итого часов/зачетных единиц</b>	<b>36/1</b>

## 5.2 Содержание практических занятий:

№ п/п	Наименование тем практических занятий	Кол-во час.
1.	Освоение метода выделения лимфоцитов крови для оценки иммунного статуса человека: -два способа выделения Т- и В-лимфоцитов периферической крови: методом градиентного центрифугирования и лизированием эритроцитов - забор проб крови в специальные пробирки с антикоагулянтом -наслаивание плазмы крови на градиент плотности фиколл/урографин, перколл, фиколл (1,077) - отбор клеток из интерфазы -отмывание клеток центрифугированием - определение жизнеспособности клеток по окрашиванию трипановым синим --подсчет клеток в камере - подготовка лизирующей жидкости, - подбор оптимальных условий лизиса эритроцитов с сохранением лейкоцитов - отмыв клеток от лизирующей жидкости - контроль жизнеспособности клеток	26
2.	Освоение метода оценки Т- и В-системы иммунитета: Определение общего числа Т-лимфоцитов CD3+, Т-хелперов CD4+ , общего числа В-лимфоцитов CD19, Т-цитотокс. CD8+, иммунорегуляторного индекса CD4+/CD8+, молекул активации CD25, CD95, HLA-DR с использованием проточного цитометра Cytomics FC-500 -подготовка реагентов для определения уровня экспрессии Т- и В-клеточных маркеров -подбор оптимальных сочетаний разных флуорохромов для одновременного счета	20

	<ul style="list-style-type: none"> <li>- подготовка исследуемых проб для фенотипирования</li> <li>- выделение лимфоцитов, подсчет клеток, контроль жизнеспособности</li> <li>- инкубация клеток с моноклональными антителами</li> <li>- подбор оптимальных условий для подсчета флуоресценции</li> <li>- анализ полученных результатов</li> </ul>	
3	<p>Освоение метода определения уровня экспрессии генов цитокинов (IL-2, IL-10, TGF-beta) и транскрипционного фактора регуляторных лимфоцитов (FOXP3) с использованием полимеразной цепной реакции (ПЦР):</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- взятие крови в пробирки с антикоагулянтом</li> <li>- выделение нуклеиновых кислот из клеток крови</li> <li>- определение чистоты полученных образцов нуклеиновых кислот</li> <li>- устройство и принцип работы системы ICycler iQ5 для проведения ПЦР</li> <li>- освоение процесса амплификации генов</li> <li>- количественная оценка уровня экспрессии генов в исследуемом материале</li> <li>- анализ полученных результатов</li> </ul>	22
4	<p>Освоение метода определения содержания цитокинов, антител, антигенов в сыворотке крови методом иммуноферментного анализа (ИФА)</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- постановка разных вариантов ИФА</li> <li>- использование ИФА для определения уровня специфических антител, антигена, IL-1, IL-2, IL-4, IL-10, TGF-beta в биологических жидкостях</li> <li>- подготовка фотометра к работе, подбор фильтров</li> <li>- подготовка реагентов</li> <li>- подготовка проб для исследования</li> <li>- анализ результатов</li> </ul>	22
<b>Итого часов/зачетных единиц</b>		<b>90/2,5</b>

### 5.3 Содержание семинарских занятий:

№ п/п	Наименование тем семинарских занятий	Кол-во час.
1.	Иммунные патологии и условия окружающей среды. Иммуитет и стресс.	2
2.	Инфекции и иммунитет. Вакцинация.	2
3.	Тяжелые комбинированные иммунодефициты.	2
4.	Аллергические реакции. Псевдоаллергические реакции. Специфическая иммунотерапия	2
5	Иммунная система и онкогенез. Гипотеза “иммунного редактирования”.	2
6	Инсулинзависимый диабет I типа. Рассеянный склероз. Другие социально-значимые аутоиммунные болезни человека.	2

7	Система регуляторных клеток. Перспективы применения в иммунотерапии	2
8	Геном человека. Практические аспекты полного картирования генома	2
9	Клонирование животных. Клонирование клеток. Клонирование генов.	2
<b>Итого часов/зачетных единиц</b>		<b>18/0,5</b>

## 6. Самостоятельная работа аспиранта

№ п/п	Вид и наименование тем самостоятельной работы	Кол-во час.
1.	Подготовка реферата на тему: «Развитие иммунного ответа на бактериальные и вирусные антигены. Новые антигены».	6
2.	Подготовка к семинару-дискуссии на тему: «Современные подходы к оценке иммунного статуса человека»	6
3.	Подготовка к семинару-дискуссии на тему: «Расширение спектра иммунных патологий и уровень цивилизации»	6
4.	Подготовка к семинару-конференции на тему: «Гиперчувствительность и аллергические заболевания в современном мире»	6
5.	Подготовка к семинару-дискуссии на тему: «Иммунотерапия. Иммуномодуляторы. Развитие новых технологий»	6
6.	Подготовка устного опроса на тему: «Старение и аутоиммунные болезни»	6
<b>Итого часов/зачетных единиц</b>		<b>36/1</b>

## 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. Клиническая иммунология и аллергология. В 3 томах. Т. 1/ Под ред. Л. Йегера. – М.: Медицина, 1990. – 528 с.: ил.
5. Клиническая иммунология и аллергология. В 3 томах. Т. 2/ Под ред. Л. Йегера. – М.: Медицина, 1990. – 560 с.: ил.
6. Клиническая иммунология и аллергология. В 3 томах. Т. 3/ Под ред. Л. Йегера. – М.: Медицина, 1990. – 528 с.: ил.
7. Клиническая иммунология. Руководство для врачей / Под ред. Акад. РАМН Е.И. Соколова.– М.: Медицина, 1998. – 272 с.: ил.
8. Петров Р.В. Иммунология. – М.: Медицина, 1983, 368 с.



9. 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.
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.(статья).
2. Жулай Г.А., Олейник Е.К. Регуляторные Т-лимфоциты CD4+CD25+FOXP3+. Перспективы применения в иммунотерапии // Труды Карельского научного центра РАН. – 2012. – №2. – С. 3 – 17. (журнал).
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. Практикум по иммунологии: Учеб. пособие / Под ред. И.А. Кондратьевой, В.Д. Самуилова. – М.: Изд-во МГУ, 2001. – 224 с.
5. Лимфоциты: Методы: Пер. с англ./ Под ред. Дж. Клауса. – М.: Мир, 1990. – 395 с., ил.

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 Skope.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 VI-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 CYTOMICS FC-500 (Beckman Coulter, США) с программным обеспечением СХР.** Прибор относится к классу самых современных автоматических анализаторов клеток. Предназначен для 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 CEQ 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. Первичные (врожденные) иммунодефициты. Дефекты Ig-нов, Т-лимфоцитов, фагоцитов, комплемента.

Тема 2. Вторичные иммунодефициты. Синдром хронической усталости. Синдром приобретенного иммунодефицита.

Тема 3. Аутоиммунные болезни. Заболевания эндокринных желез, ЖКТ, крови, нервной системы, системные васкулиты.

Тема 4. Аллергические болезни. Аллергены. Бронхиальная астма, системная анафилаксия, пищевая аллергия, крапивница.

Тема 5. Иммунная система и опухолевые заболевания. Опухоль-ассоциированные антигены.

Тема 6. Иммунный ответ на трансплантат. Механизмы отторжения.

Тема 7. Иммунограмма. Основные показатели иммунного статуса.

Тема 8. Моноклональные антитела, получение, применение.

Тема 9. Цитокины – ключевые медиаторы иммунного ответа. Применение в клинике.

Тема 10. Иммуномодуляторы. Классификация. Области применения.

## 10. Перечень тестовых заданий к зачету

выбрать правильные варианты ответа и подчеркнуть (\* помечены правильные ответы):

### 1. Болезнь Брутона - это

- первичный иммунодефицит \*
- вторичный иммунодефицит
- аутоиммунное заболевание
- аллергическое заболевание
- вызвана дефицитом В-лимфоцитов\*
- дефектом гена тирозинкиназы в 22 хромосоме\*
- вызвана дефицитом Т-лимфоцитов
- дефицит Ig-нов\*
- повышена восприимчивость к бактериальным инфекциям\*
- повышена восприимчивость к вирусным инфекциям

### 2. Синдром Ди-Джорджи - это

- первичный иммунодефицит\*
- вторичный иммунодефицит
- аутоиммунное заболевание
- аллергическое заболевание
- вызван дефицитом Т-лимфоцитов\*
- вызван дефицитом В-лимфоцитов
- вызван дефицитом Т- и В-лимфоцитов
- нарушается эмбриогенез тимуса\*
- недостаточный синтез Ig-нов
- повышена восприимчивость к вирусным и грибковым инфекциям\*
- повышена восприимчивость к бактериальным инфекциям

### 3. Синдром Вискотта-Олдрича – это

- аутоиммунное заболевание
- опухолевое заболевание
- аллергическое заболевание
- первичный иммунодефицит\*
- вторичный иммунодефицит

- вызван дефицитом Т- и В- лимфоцитов\*
- вызван дефицитом Т-лимфоцитов
- вызван дефицитом В-лимфоцитов
- характеризуется тромбоцитопенией\*
- связан с аномальной экспрессией молекул адгезии CD43\*

#### **4. Хроническая гранулематозная болезнь – это**

- аллергическое заболевание
- аутоиммунное заболевание
- первичный иммунодефицит\*
- вторичный иммунодефицит
- комбинированный дефицит
- дефицит Т-лимфоцитов
- дефицит Ig-нов
- дефекты в фагоцитах \*
- нарушение генерации активных форм кислородных радикалов\*
- макрофаги накапливаются и образуют гранулемы\*

#### **5. Инсулинзависимый сахарный диабет – это**

- аутоиммунное заболевание\*
- первичный иммунодефицит
- вторичный иммунодефицит
- комбинированный иммунодефицит
- сцеплен с HLA-гаплотипом\*
- разрушаются β-клетки панкреатических островков\*
- эффекторы иммунного воспаления – CD8+Т-лимфоциты\*
- эффекторы иммунного воспаления – CD4+ Т-лимфоциты\*
- недостаточный синтез Ig-нов
- недостаточный синтез ИЛ-2

#### **6. Анафилаксия**

- сенсibilизация означает наличие специфического IgG
- сенсibilизация означает наличие специфического IgE\*
- специфические антитела связываются с нейтрофилами
- специфические антитела связываются тучными клетками\*
- эозинофилы не принимают участия в ГЧ
- не развивается при вторичном попадании аллергена
- медиаторы анафилаксии – это интерлейкины
- медиаторы анафилаксии – это интерфероны
- основную роль в ГНТ играют Тх1 CD4+ лимфоциты
- основную роль в ГНТ играют Тх2 CD4+лимфоциты

#### **7. Медиаторы аллергии**

- немедленные медиаторы находятся в гранулах в готовом виде\*
- гистамин образуется после активации тучных клеток
- простагландины относятся к немедленным медиаторам
- местное расширение сосудов связано с действием гистамина\*
- спазм гладкой мускулатуры (бронхов) вызывается гепарином
- гиперпродукция слизи и секретов вызывается лейкотриенами\*
- сенсibilизацию не выявляет кожный тест

- аллергенспецифический IgE определяется в сыворотке крови\*
- десенсибилизации можно добиться многократным введением аллергена\*
- крапивница – это системная аллергическая реакция\*
- отек Квинке – это системная аллергическая реакция
- бронхиальная астма – это локальная аллергическая реакция\*

## 8. Гиперчувствительность замедленного типа

- сывороточная болезнь относится к ГЧ II типа
- реакция при переливании несовместимой крови относится к ГЧ III типа
- гемолитическая болезнь новорожденных относится к ГЧ II типа\*
- реакция Артюса – локальное проявление иммунокомплексной ГЧ\*
- при гломерулонефрите ИК откладываются в почках\*
- в ГЗТ главную роль играют антитела
- гранулемы – это скопление в ткани делящихся лимфоцитов, фибробластов\*
- гранулемы - это скопление в ткани ИК
- при контактном ГЗТ антиген проникает через эпидермис\*
- лихорадка при герпесе – это проявление ГЧ I типа

## 9. 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

## 10. Иммунотерапия

- назначается только по результатам лабораторного анализа
- назначается только по результатам клинико-иммунологического анализа\*
- бронхомунил – препарат микробного происхождения\*
- нуклеинат натрия стимулирует фагоцитоз\*
- БЦЖ стимулирует клеточный иммунитет\*
- циклоспорин – это иммуностимулятор
- препараты Ig-нов используются в терапии Т-клеточных иммунодефицитов
- при трансплантации органов применяют иммунодепрессанты\*
- цитокиноterapia назначается при вирусных инфекциях\*
- цитокиноterapia назначается при опухолевых