

# ОГЛАВЛЕНИЕ

|   |           |
|---|-----------|
| Предисловие . . . . .   | 5         |
| Список сокращений . . . . .   | 8         |
| <br>  |           |
| <b>Глава 1. Предпосылки иммунологического метода анализа . . . . .</b>                      | <b>9</b>  |
| 1.1. Введение . . . . .   | 9         |
| 1.2. Терминология . . . . .   | 10        |
| 1.3. Начальные этапы развития радиониммунологии . . . . .                                   | 12        |
| 1.4. Основные принципы методов связывания . . . . .   | 14        |
| 1.5. Кривые разведения связывающего агента и калибровочные кривые . . . . .                 | 18        |
| 1.6. Способы построения калибровочной кривой . . . . .                                      | 25        |
| 1.7. Важное значение величины $K$ . . . . .   | 28        |
| 1.8. Измерение величины $K$ . . . . .   | 28        |
| 1.9. Система, моделирующая метод связывания . . . . .                                       | 31        |
| 1.10. Некоторые примеры использования модельной системы . . . . .                           | 31        |
| <br>  |           |
| <b>Глава 2. Условие применения метода связывания — наличие очищенного лиганда . . . . .</b> | <b>35</b> |
| 2.1. Требования, предъявляемые методом связывания . . . . .                                 | 35        |
| 2.2. Необходимость очищенного лиганда . . . . .   | 35        |
| 2.3. Доступность чистого лиганда . . . . .  | 39        |
| 2.3.1. Крупные гормоны белковой природы . . . . .   | 39        |
| 2.3.2. Канцероплодные антигены . . . . .  | 40        |
| 2.3.3. Стероидные гормоны и лекарственные препараты . . . . .                               | 40        |
| 2.3.4. Небольшие пептидные гормоны . . . . .  | 41        |
| 2.4. Различие между очищенным и эндогенным лигандом . . . . .                               | 42        |
| 2.5. Стандарты . . . . .  | 43        |
| 2.6. Хранение материалов . . . . .  | 48        |
| <br>  |           |
| <b>Глава 3. Условие применения метода связывания — наличие меченого лиганда . . . . .</b>   | <b>50</b> |
| 3.1. Радиоактивные изотопы . . . . .  | 50        |
| 3.2. Определение радиоактивных изотопов . . . . .   | 52        |

|        |  |    |
|--------|--|----|
| 3.3.   | Выбор счетчика . . . . .   | 54 |
| 3.4.   | Некоторые практические аспекты измерения радиоактивности . . . . . | 56 |
| 3.5.   | Основные характеристики меченого лиганды . . . . .                 | 58 |
| 3.6.   | Приготовление меченых лигандов . . . . .                           | 59 |
| 3.7.   | Лиганды, меченные изотопами иода . . . . .                         | 60 |
| 3.7.1. | Методы иодирования . . . . .                                       | 60 |
| 3.7.2. | Практические аспекты иодирования . . . . .                         | 65 |
| 3.7.3. | Повреждения лиганды, вызываемые иодированием . . . . .             | 68 |
| 3.7.4. | Очистка иодированного лиганды . . . . .                            | 72 |
| 3.7.5. | Химический контроль меченого лиганды . . . . .                     | 77 |
| 3.8.   | Альтернативные типы меток . . . . .                                | 81 |
| 3.8.1. | Флуоресцентная метка . . . . .                                     | 81 |
| 3.8.2. | Ферментные метки . . . . .   | 81 |
| 3.8.3. | Свободнорадикальные метки . . . . .                                | 83 |
| 3.8.4. | Возможность использования бактериофага в качестве метки . . . . .  | 83 |

**Глава 4. Условие применения метода связывания — наличие связывающего агента . . . . .** 84

|         |  |     |
|---------|--|-----|
| 4.1.    | Необходимые характеристики связывающего агента . . . . .                                     | 84  |
| 4.2.    | Антитела . . . . .   | 86  |
| 4.2.1.  | Химия антител . . . . .  | 86  |
| 4.2.2.  | Химия антигенов . . . . .  | 88  |
| 4.2.3.  | Клеточная основа иммунной реакции . . . . .  | 88  |
| 4.2.4.  | Физиология иммунной реакции . . . . .  | 90  |
| 4.2.5.  | Характеристики антител, имеющие значение для методов связывания . . . . .                    | 90  |
| 4.2.6.  | Получение антител . . . . .  | 91  |
| 4.2.7.  | Природа и доза иммуногена . . . . .  | 93  |
| 4.2.8.  | Использование гаптенов в качестве иммуногенов . . . . .                                      | 95  |
| 4.2.9.  | Использование адьюванта . . . . .  | 97  |
| 4.2.10. | Виды животных . . . . .  | 98  |
| 4.2.11. | Способ иммунизации . . . . .   | 98  |
| 4.2.12. | Последовательность инъекций и сбора антисыворотки . . . . .                                  | 99  |
| 4.2.13. | Отбор антисывороток для использования в радиоиммунологическом методе анализа . . . . .       | 100 |
| 4.2.14. | Хранение антисывороток . . . . .   | 102 |
| 4.3.    | Клеточные рецепторы . . . . .  | 102 |
| 4.4.    | Связывающие белки плазмы . . . . .   | 103 |
| 4.5.    | Иммунорадиометрический метод анализа эндогенных антител и связывающих белков крови . . . . . | 104 |

**Глава 5. Условие применения метода связывания — наличие способа разделения свободного и связанного лиганды . . . . .** 107

|        |   |     |
|--------|---|-----|
| 5.1.   | Эффективность методов разделения . . . . .                  | 107 |
| 5.2.   | Практичность методов разделения . . . . .                   | 109 |
| 5.3.   | Методы разделения свободного и связанного лиганды . . . . . | 110 |
| 5.3.1. | Электрофорез . . . . .                                      | 111 |
| 5.3.2. | Гель-фильтрация . . . . .                                   | 112 |
| 5.3.3. | Методы адсорбции . . . . .                                  | 113 |
| 5.3.4. | Фракционное осаждение . . . . .                             | 116 |

|        |  |     |
|--------|--|-----|
| 5.3.5. | Методы двойных антител . . . . .   | 120 |
| 5.3.6. | Твердофазные системы . . . . .   | 124 |
| 5.3.7. | Заключение. Выбор методики разделения . . . . .                            | 127 |
| 5.4.   | Иммунорадиометрические методы анализа . . . . .                            | 129 |
| 5.4.1. | Преимущества и недостатки иммунорадиометрического метода анализа . . . . . | 132 |

**Глава 6. Условие применения метода связывания — экстрагирование лиганда из биологических жидкостей . . . . .** 133

|        |   |     |
|--------|---|-----|
| 6.1.   | Экстрагирование с целью концентрирования лиганда . . . . .  | 133 |
| 6.1.1. | Методы экстракции и концентрирования, основанные на применении мелкозернистых адсорбентов . . . . . | 135 |
| 6.2.   | Экстракция с целью очистки лиганда . . . . .  | 139 |
| 6.2.1. | Экстракция с целью повышения специфичности . . . . .  | 140 |
| 6.2.2. | Экстракция с целью освобождения лиганда из коиньюгатов или комплексов . . . . .                     | 142 |
| 6.3.   | Общие черты методов экстракции . . . . .  | 145 |

**Глава 7. Условие применения метода связывания — расчет результатов анализа . . . . .** 146

|      |  |     |
|------|--|-----|
| 7.1. | Расчет результатов путем простой экстраполяции от руки . . . . .                   | 146 |
| 7.2. | Линеаризация калибровочной кривой . . . . .  | 147 |
| 7.3. | Электронная аппаратура для расчета результатов . . . . .                           | 149 |
| 7.4. | Определение доверительных пределов при интерпретации результатов анализа . . . . . | 151 |

**Глава 8. Характеристика метода связывания: чувствительность . . . . .** 153

|         |  |     |
|---------|--|-----|
| 8.1.    | Определение понятия «чувствительность» . . . . .   | 153 |
| 8.2.    | Пути повышения чувствительности метода связывания . . . . .  | 155 |
| 8.2.1.  | Уменьшение количества меченого лиганда . . . . .   | 156 |
| 8.2.2.  | Уменьшение количества связывающего агента . . . . .  | 157 |
| 8.2.3.  | Увеличение времени инкубации . . . . .   | 159 |
| 8.2.4.  | Уменьшение продолжительности инкубации — неравновесный метод анализа . . . . .                                   | 160 |
| 8.2.5.  | Порядок добавления реагентов . . . . .   | 161 |
| 8.2.6.  | Очистка связывающего агента . . . . .  | 162 |
| 8.2.7.  | Увеличение объема образца . . . . .  | 162 |
| 8.2.8.  | Температура инкубации . . . . .  | 163 |
| 8.2.9.  | Увеличение числа параллельных проб . . . . .   | 164 |
| 8.2.10. | Экстракция и концентрирование . . . . .  | 164 |
| 8.3.    | Способы снижения чувствительности анализа . . . . .  | 164 |
| 8.4.    | Практическая целенаправленность метода анализа; важное значение интервалов между растворами стандартов . . . . . | 167 |
| 8.5.    | Оптимизация метода количественного определения с помощью теоретического анализа . . . . .                        | 167 |
| 8.6.    | Выводы . . . . .   | 169 |

|  |     |
|--|-----|
| <b>Глава 9. Характеристика метода связывания: специфичность . . . . .</b>                                | 170 |
| 9.1. Определение понятия «специфичность» . . . . .   | 170 |
| 9.2. Специфическая неспецифичность . . . . .   | 170 |
| 9.2.1. Основа специфической неспецифичности . . . . .  | 171 |
| 9.2.2. Идентификация специфической неспецифичности . . . . .   | 173 |
| 9.2.3. Методы повышения специфичности . . . . .  | 176 |
| 9.3. Неспецифическая неспецифичность . . . . .   | 179 |
| 9.3.1. Присутствие веществ, препятствующих взаимодействию между связывающим агентом и лигандом . . . . . | 180 |
| 9.3.2. Разброс величины холостой пробы в образцах . . . . .  | 180 |
| 9.3.3. Разрушение или инактивация связывающего агента или меченого лиганда . . . . .                     | 181 |
| 9.3.4. Разрушение или инактивация немеченого лиганда . . . . .   | 182 |
| 9.3.5. Обнаружение и устрашение неспецифической неспецифичности . . . . .                                | 183 |
| <b>Глава 10. Характеристика метода связывания: точность . . . . .</b>                                    | 186 |
| 10.1. Определения . . . . .  | 186 |
| 10.2. Факторы, влияющие на точность . . . . .  | 186 |
| 10.2.1. Ошибки, связанные с реагентами и методикой . . . . .   | 187 |
| 10.2.2. Ошибки, связанные с техникой проведения анализа . . . . .  | 194 |
| 10.3. Способы проверки точности методов связывания . . . . .   | 195 |
| 10.3.1. Приготовление материалов для контроля качества анализа с целью проверки точности . . . . .       | 195 |
| 10.3.2. Определение точности с помощью препаратов, предизиначеных для контроля качества . . . . .        | 197 |
| 10.3.3. Другие способы проверки точности . . . . .   | 200 |
| 10.4. Пути оптимизации точности анализа . . . . .  | 201 |
| <b>Глава 11. Характеристика метода связывания: взаимосвязь с другими видами анализа . . . . .</b>        | 202 |
| 11.1. Определение . . . . .  | 202 |
| 11.2. Рецепторный метод анализа . . . . .  | 203 |
| 11.3. Методы анализа, основанные на использовании связывающих белков плазмы . . . . .                    | 203 |
| 11.4. Иммунологические методы анализа . . . . .  | 204 |
| 11.5. Резюме . . . . .   | 210 |
| <b>Глава 12. Автоматизация аналитических операций . . . . .</b>  | 211 |
| 12.1. Общие положения . . . . .  | 211 |
| 12.2. Идентификация и отбиение образца . . . . .   | 212 |
| 12.3. Добавление реагентов . . . . .   | 213 |
| 12.4. Инкубация . . . . .  | 213 |
| 12.5. Разделение свободного и связанного лиганда . . . . .   | 214 |
| 12.6. Измерение радиоактивности . . . . .  | 215 |
| 12.7. Расчет результатов . . . . .   | 216 |
| 12.8. Резюме . . . . .   | 216 |

---

|  |            |
|--|------------|
| <b>Глава 13. Организация аналитической службы . . . . .</b>        | <b>217</b> |
| 13.1. Кто должен проводить радиоиммунологический анализ? . . . . . | 217        |
| 13.2. Организация аналитической лаборатории . . . . .              | 218        |
| 13.3. Организация аналитической службы . . . . .                   | 222        |
| <b>Приложения . . . . .</b>  | <b>225</b> |
| Приложение I . . . . .   | 225        |
| Приложение II . . . . .  | 227        |
| Приложение III . . . . .   | 228        |
| Приложение IV . . . . .  | 229        |
| Приложение V . . . . .   | 230        |
| <b>Список литературы . . . . .</b>                                 | <b>234</b> |
| <b>Предметный указатель . . . . .</b>                              | <b>238</b> |