

Иммуноферментный анализ (ИФА) – современный ключевой метод клинической диагностики инфекционных и неинфекционных заболеваний

Левашов Павел Андреевич, д.х.н., ведущий научный сотрудник

Смирнов Сергей Александрович, научный сотрудник кафедры

Гасанова Дарья Алановна, инженер

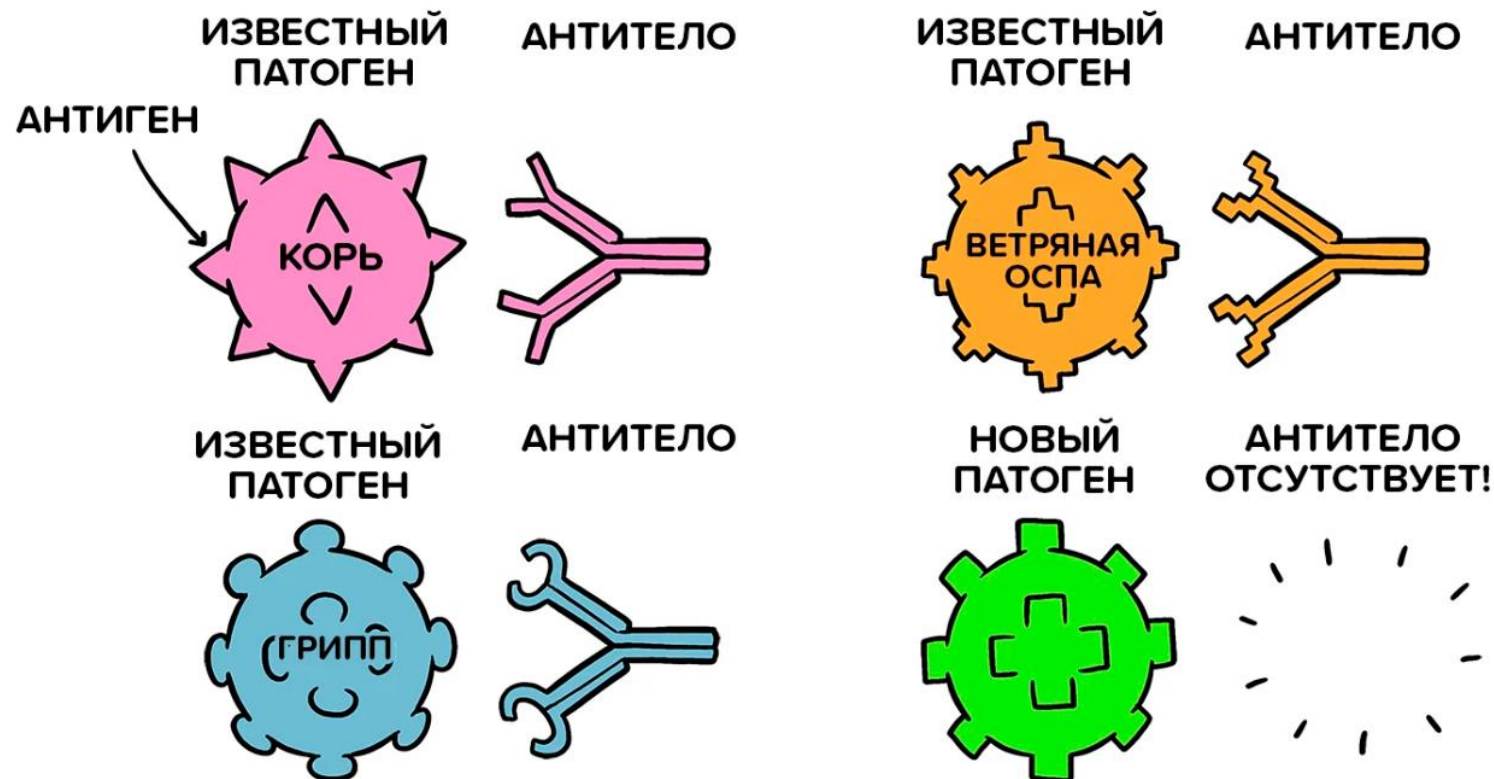
**Кафедра химической энзимологии
химического факультета МГУ имени
М.В. Ломоносова**

ИММУНОХИМИЯ В МЕДИЦИНСКИХ АНАЛИЗАХ (не только иммуноферментный анализ)



<https://artembolnica2.ru/virusy/nabor-reagentov-dlya-kolichestvennogo-opredeleniya-dnk-virusa-gepatita-v.html>

- Иммунохимические методы в аналитической химии – это методы, основанные на свойствах антител (иммуноглобулинов – специальных белков)
- Антитела обладают способностью высокоспецифического узнавания (связывания) антигена
- Определяемым в анализе веществом могут быть как антигены, так и антитела

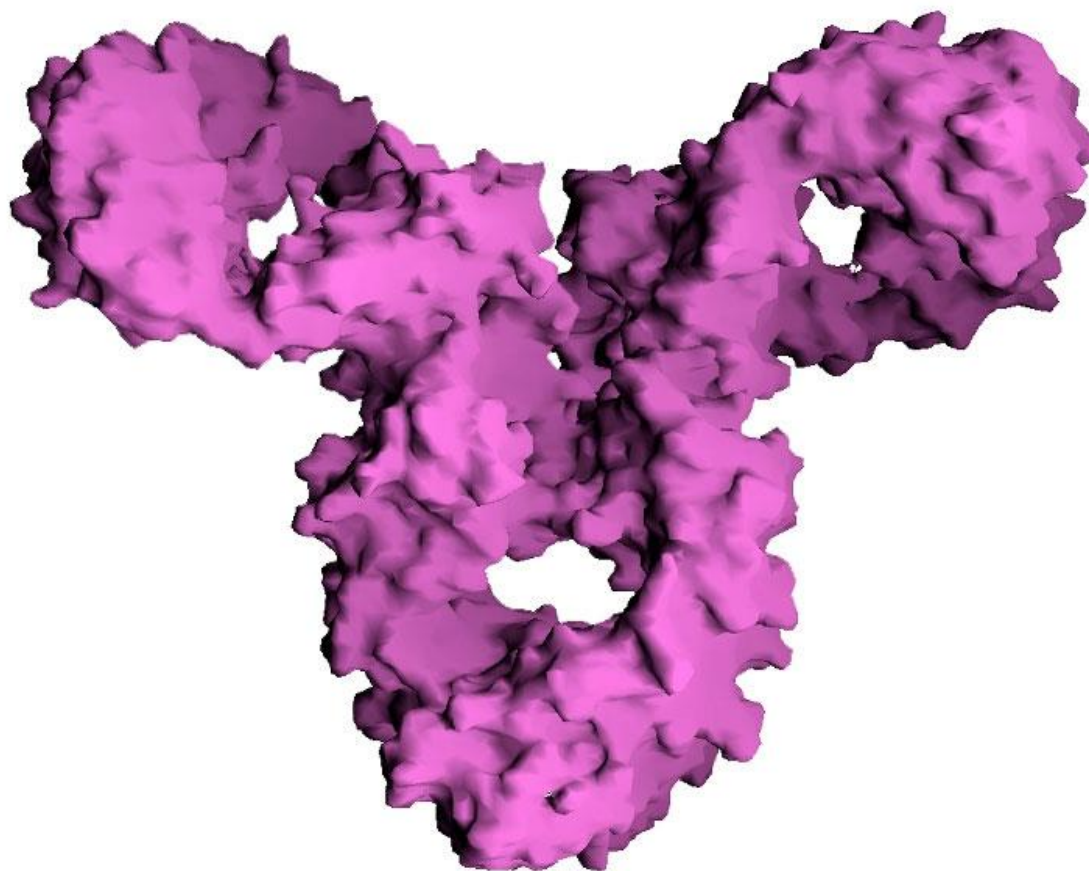


Что такое Антиген:

- Чаще всего антиген - это белок или комплекс белков: например, белок патогенного организма (бактерии, вируса итд) или белок-маркер, показывающий изменения в организме, которые могут быть связаны с патологией как инфекционной природы, так и неинфекционной природы (в том числе как генетически обусловленной, так и приобретённой вне генетических причин)
- Также антигенами могут быть полисахариды, нуклеиновые кислоты и комплексы биополимеров

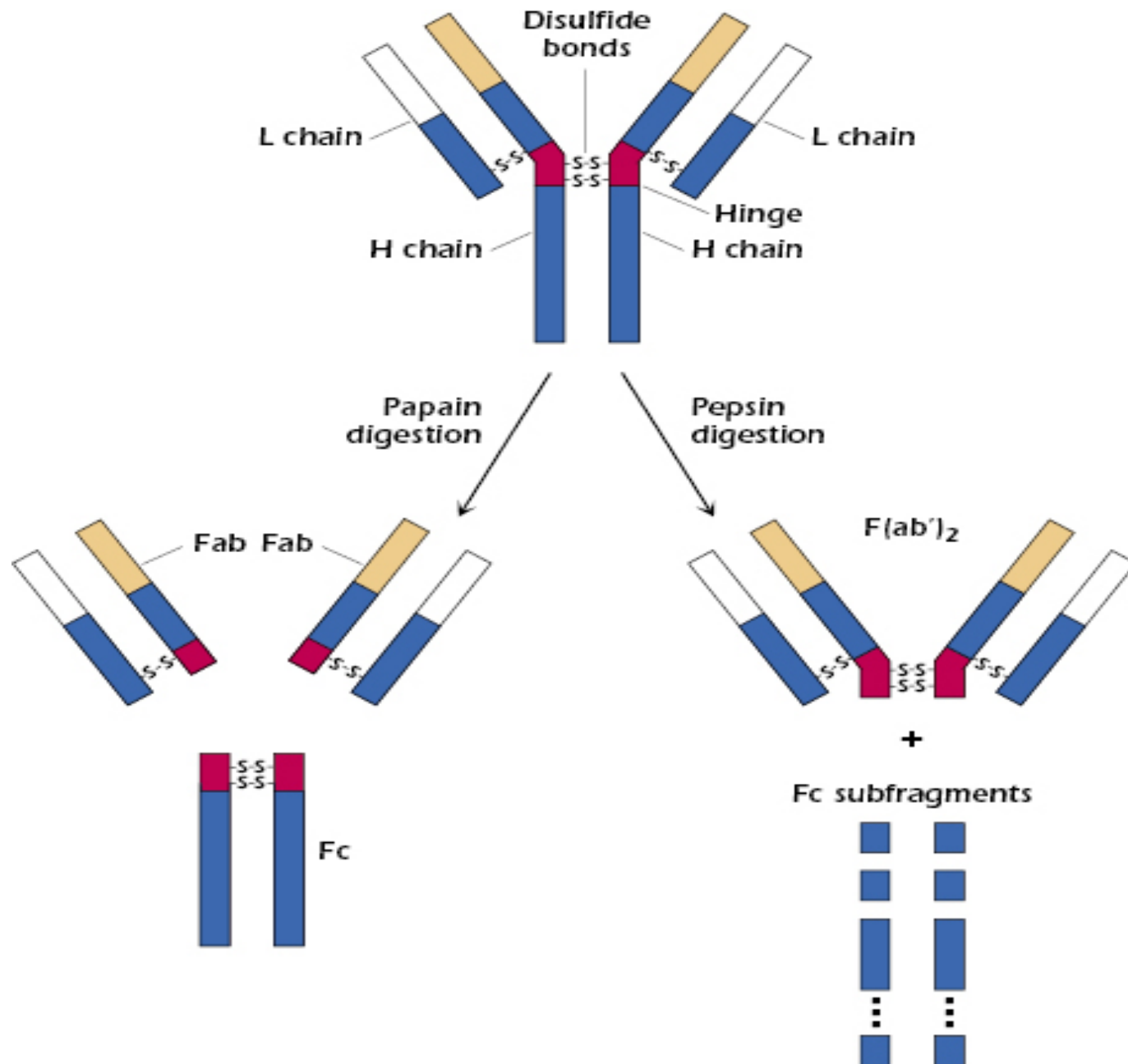
АНТИТЕЛА

Иммуноглобулин основного класса IgG, белок с молекулярной массой 150-160 кДа



https://info-farm.ru/alphabet_index/i/immunoglobuliny-klassa-g.html

Структура иммуноглобулинов G



Основные виды (классы) иммуноглобулинов

IgG



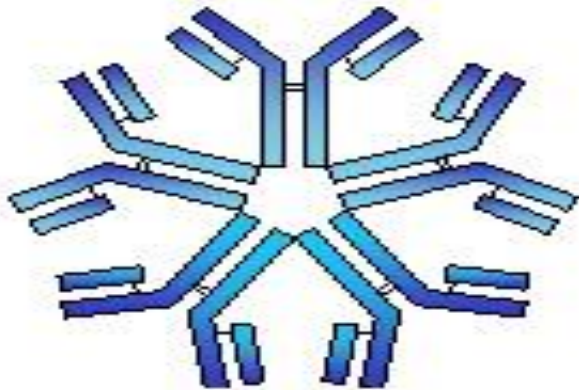
IgE



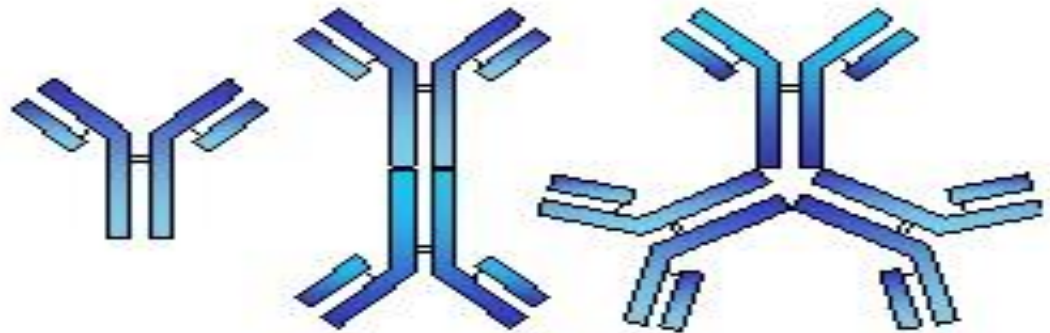
IgD

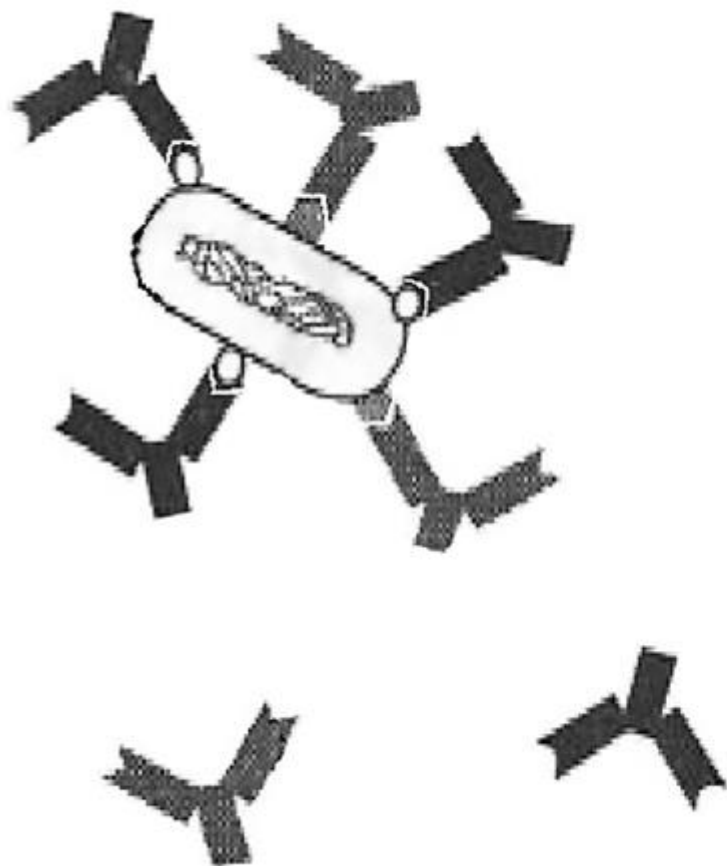


IgM

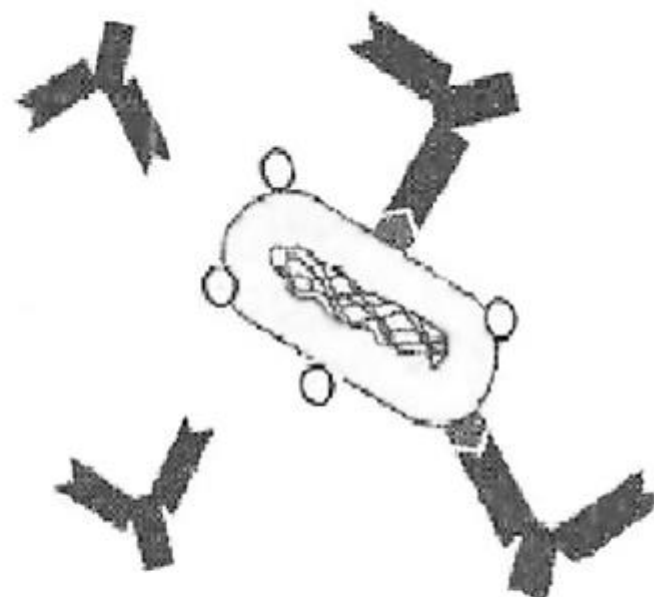


IgA





ПОЛИКЛОНАЛЬНЫЕ АНТИТЕЛА



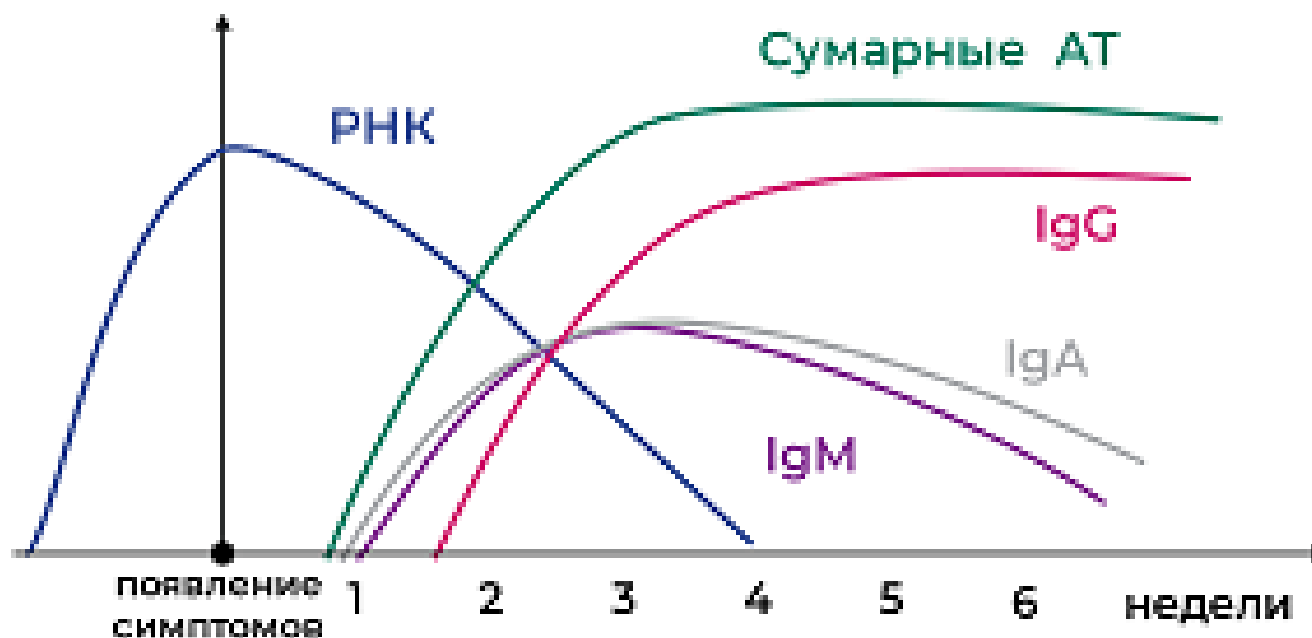
МОНОКЛОНАЛЬНЫЕ АНТИТЕЛА

<http://www.rusdocs.com/monoklinalnye-antitela>

Пример мониторинга течения инфекционного заболевания по уровням антител

<https://www.vector-best.ru/vbest/news.detail.php?ID=12895&IB=1>

https://vector-best.ru/prod/index.php?SECTION_ID=2500



Что измеряем? Пример списка наборов реагентов с сайта компании «Вектор-Бест»

Наборы реагентов

ВИЧ-инфекция

Вирусные гепатиты

ИППП

TORCH и герпесвирусные инфекции

Микозы

Природно-очаговые и зоонозные инфекции

Вакциноуправляемые инфекции

Инфекции респираторного тракта

Туберкулез

Паразитарные инвазии

Желудочно-кишечные заболевания

Гормоны

Беременность и ее мониторинг

Диагностика сахарного диабета

Анемии

Опухолевые маркеры

Маркеры острой фазы

Диагностика тромбозов

Кардиомаркеры

Аутоиммунные и системные заболевания

Гуморальный иммунный статус

Оценка функции почек

Цитокины

Аллергодиагностика

Контрольные материалы

Ветеринария

КОЛИЧЕСТВЕННЫЙ ИММУНОФЕРМЕНТНЫЙ АНАЛИЗ

ВЕКТОР
БЕСТ

набор реагентов
для иммуноферментного выявления
иммуноглобулинов класса М
к SARS-CoV-2

D-5502

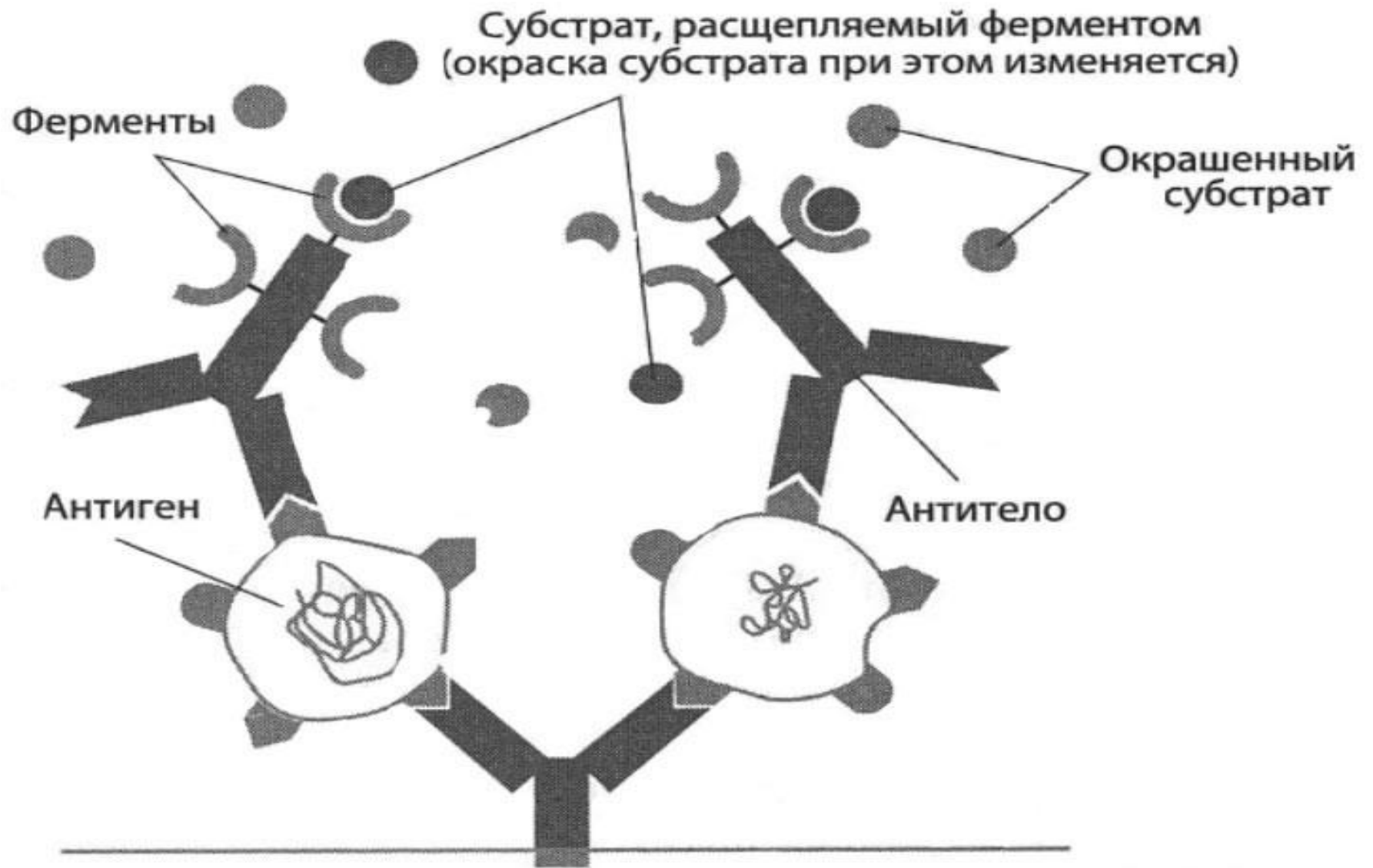
SARS-CoV-2-IgM-ИФА-БЕСТ

№	СОСТАВ:	№
1.	Планшет разборный с иммобилизованным моноклональными антителами к IgM человека, инактивированный	1 шт. 4
2.	Положительный контрольный образец, инактивированный	1 фл. 1,5 мл 5
3.	Отрицательный контрольный образец, инактивированный	1 фл. 2,5 мл 5
4.	Конъюгат	1 фл. 13,0 мл 5
5.	Раствор для разведения сывороток	1 фл. 12,0 мл 140465
6.	Раствор для предварительного разведения сывороток	1 фл. 10 мл 916
7.	Концентрат фосфатно-солевого буферного раствора с твином	1 фл. 28,0 мл 2852
8.	Раствор тетраметилбензидина	1 фл. 13,0 мл 455
9.	Стоп-реагент	1 фл. 12,0 мл 1337
10.	Планшет разборный для предварительного разведения исследуемых образцов	1 шт.
11.	Пленки для заклеивания планшета	2 шт.
12.	Наконечники для дозаторов	16 шт.
13.	Ванночки для реагентов	2 шт.

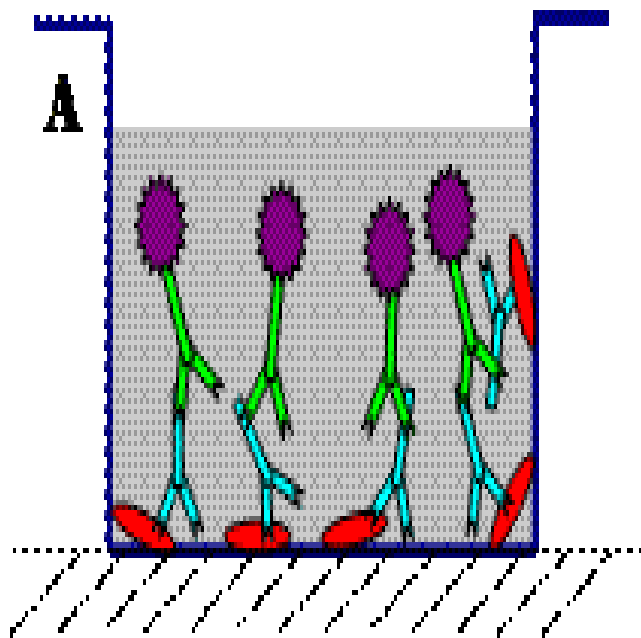


<https://mrfilin.com/ifa>

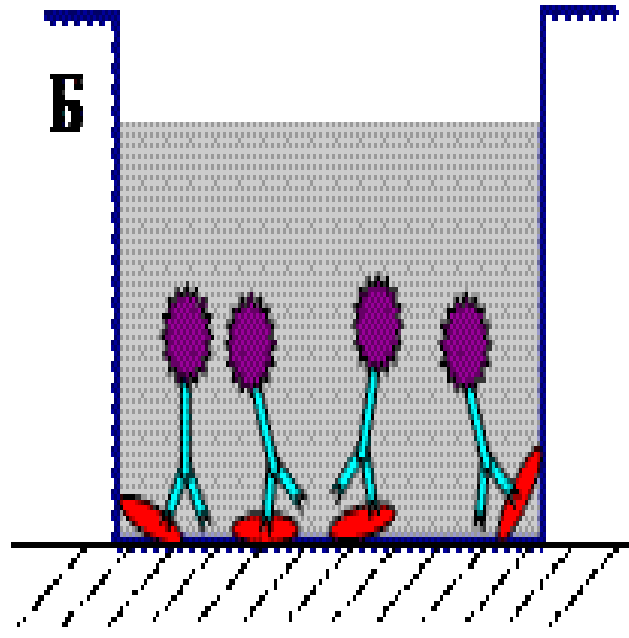
ПРИНЦИПЫ ПРОВЕДЕНИЯ ТВЕРДОФАЗНОГО ИММУНОФЕРМЕНТНОГО АНАЛИЗА (НА ПРИМЕРЕ СКНДВИЧ МЕТОДА)



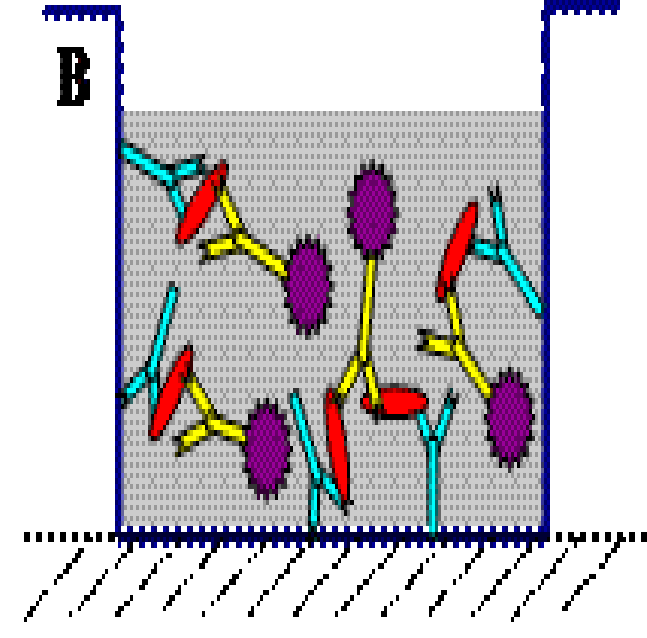
Основные виды твердофазного иммуноферментного анализа (ELISA enzyme-linked immunosorbent assay)



А. Непрямой



Б. Прямой

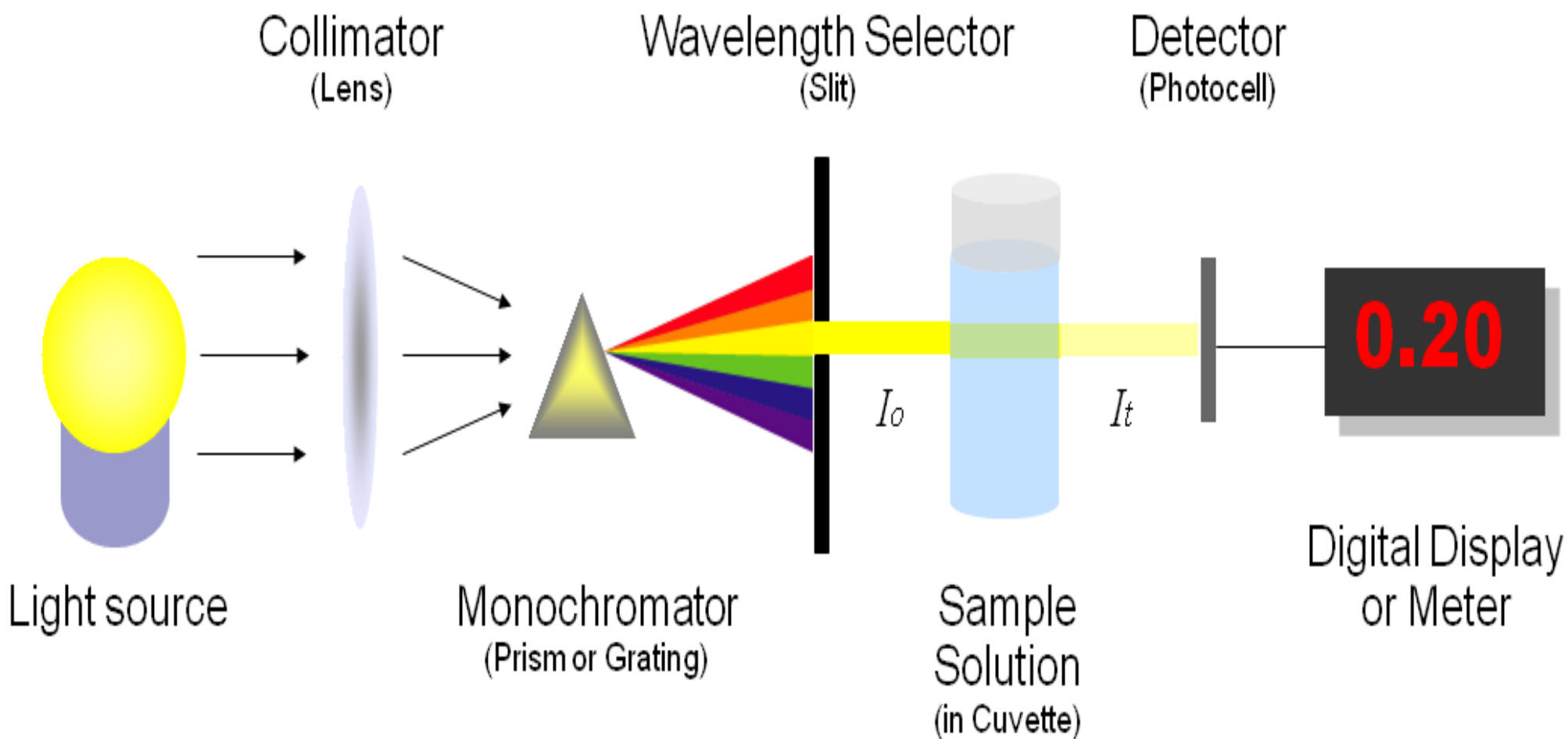


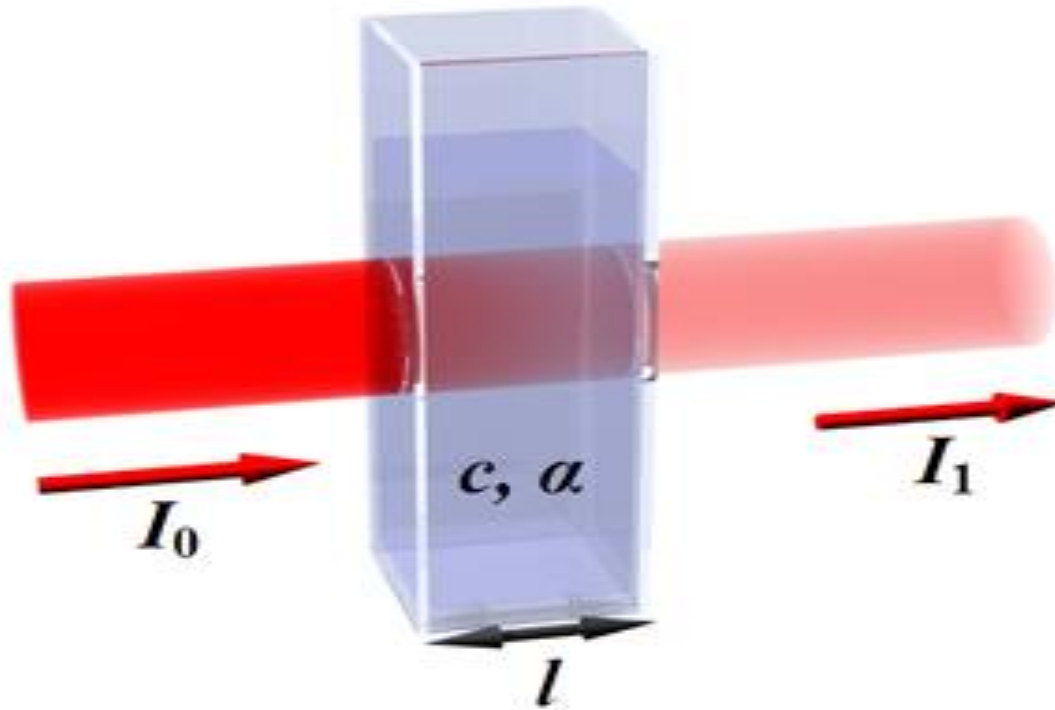
В. Сэндвич

<http://www.bialexa.ru/technical-support/methods/elisa/>

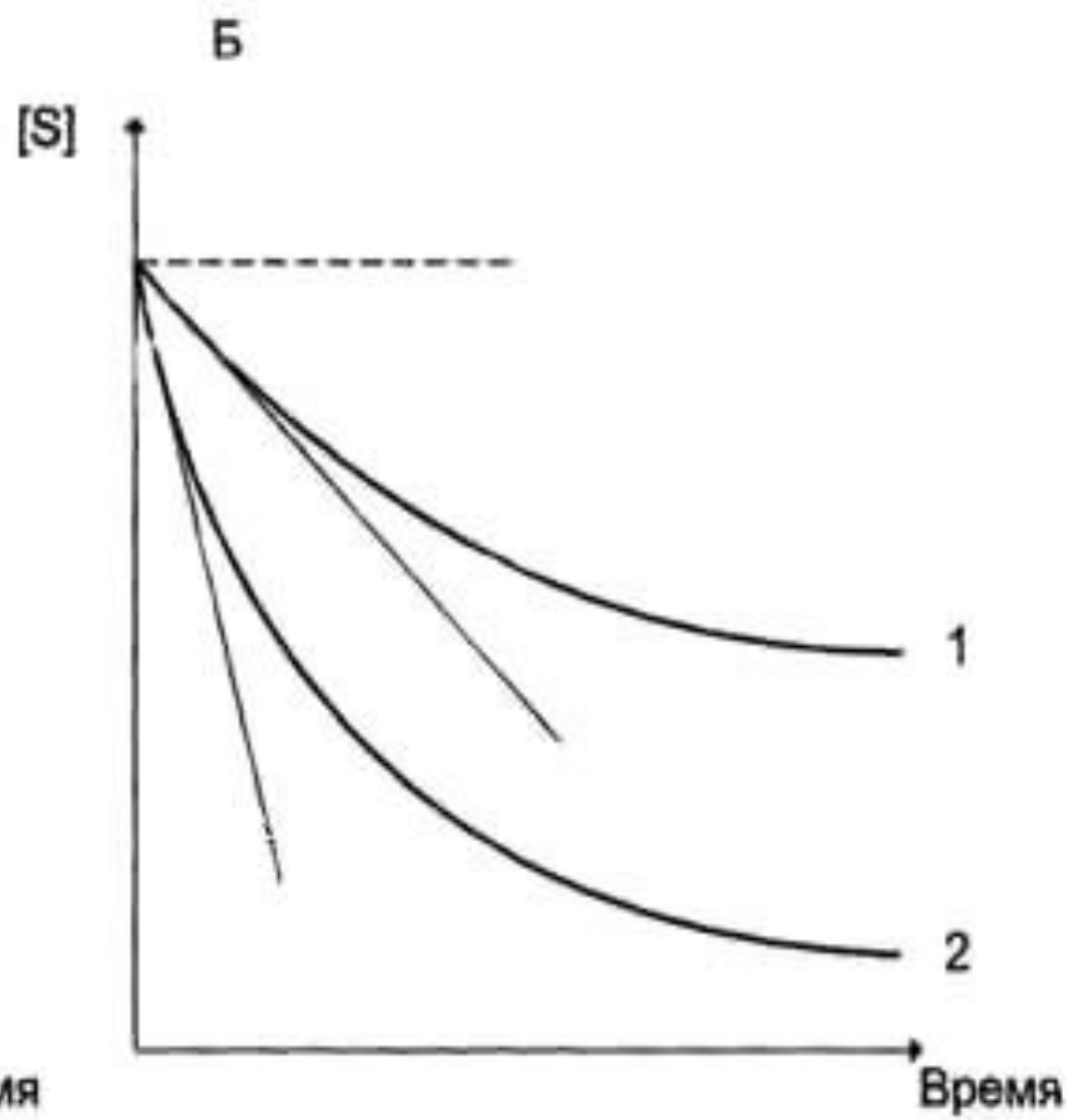
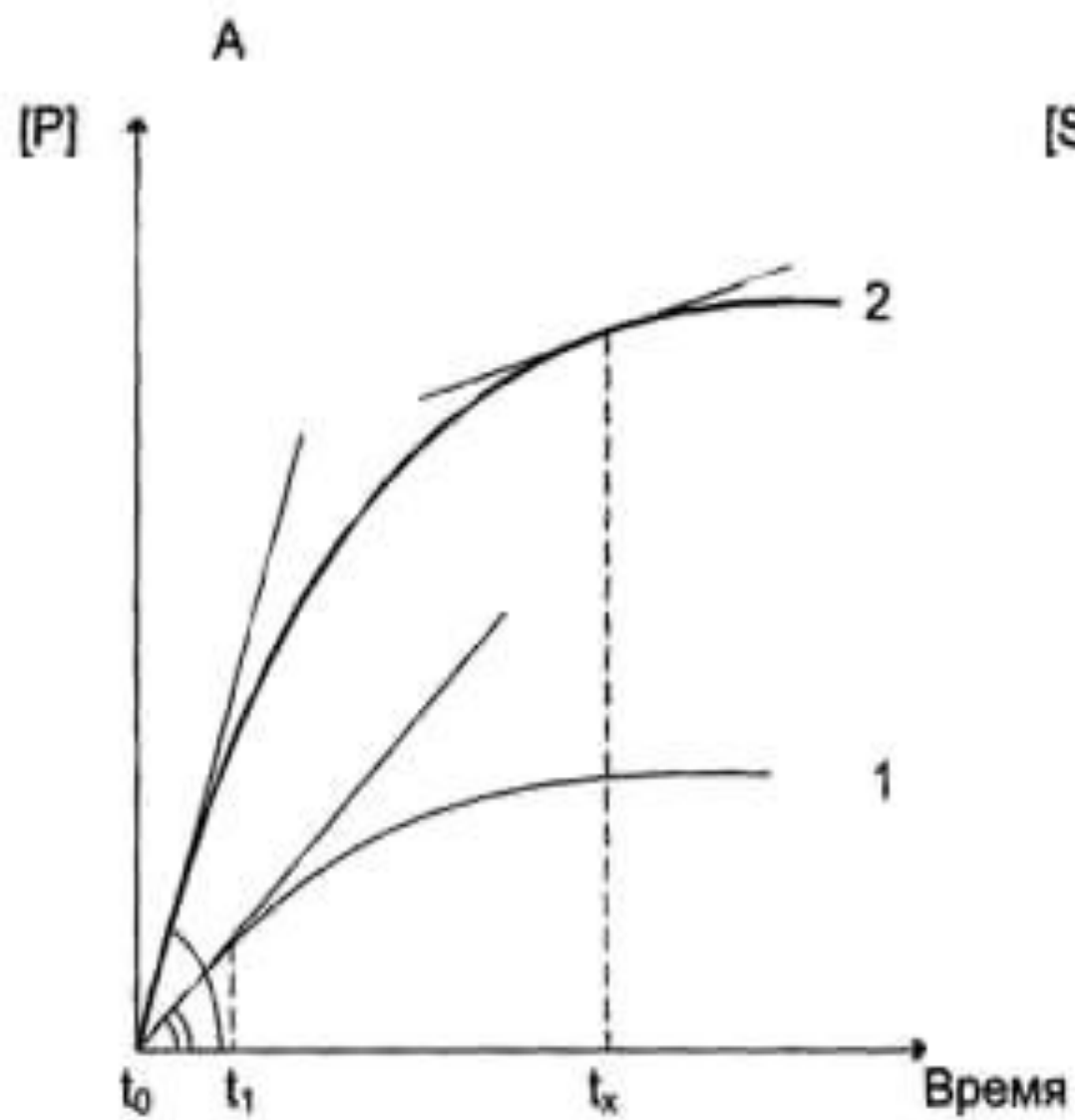
Детекция аналитического сигнала

Поглощение фотонов света веществом





$$D = \lg \frac{I_0}{I} = \varepsilon c l$$

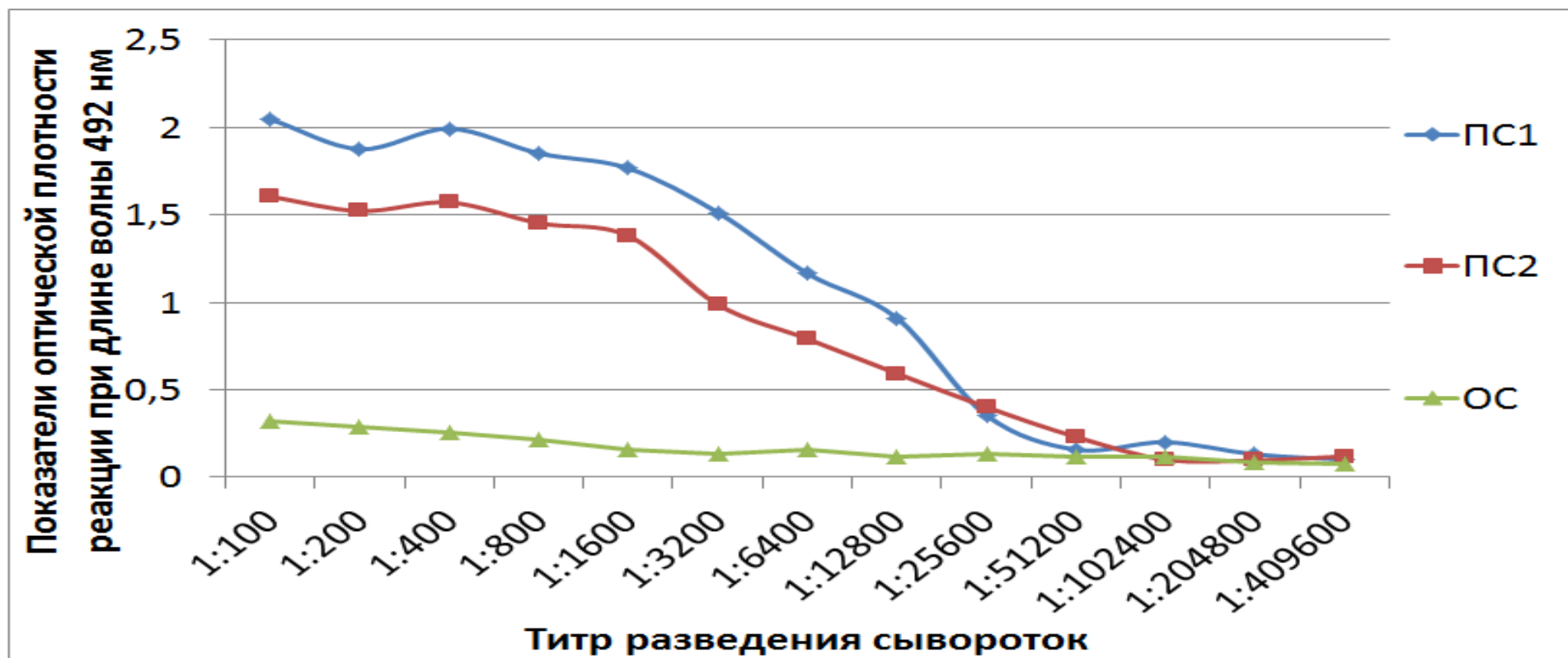


Планшеты для проведения реакции и для детекции аналитического сигнала, сорбирующие и несорбирующие, цельные и разборные



ПРИМЕРЫ ПРОВЕДЕНИЯ АНАЛИЗА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ИФА

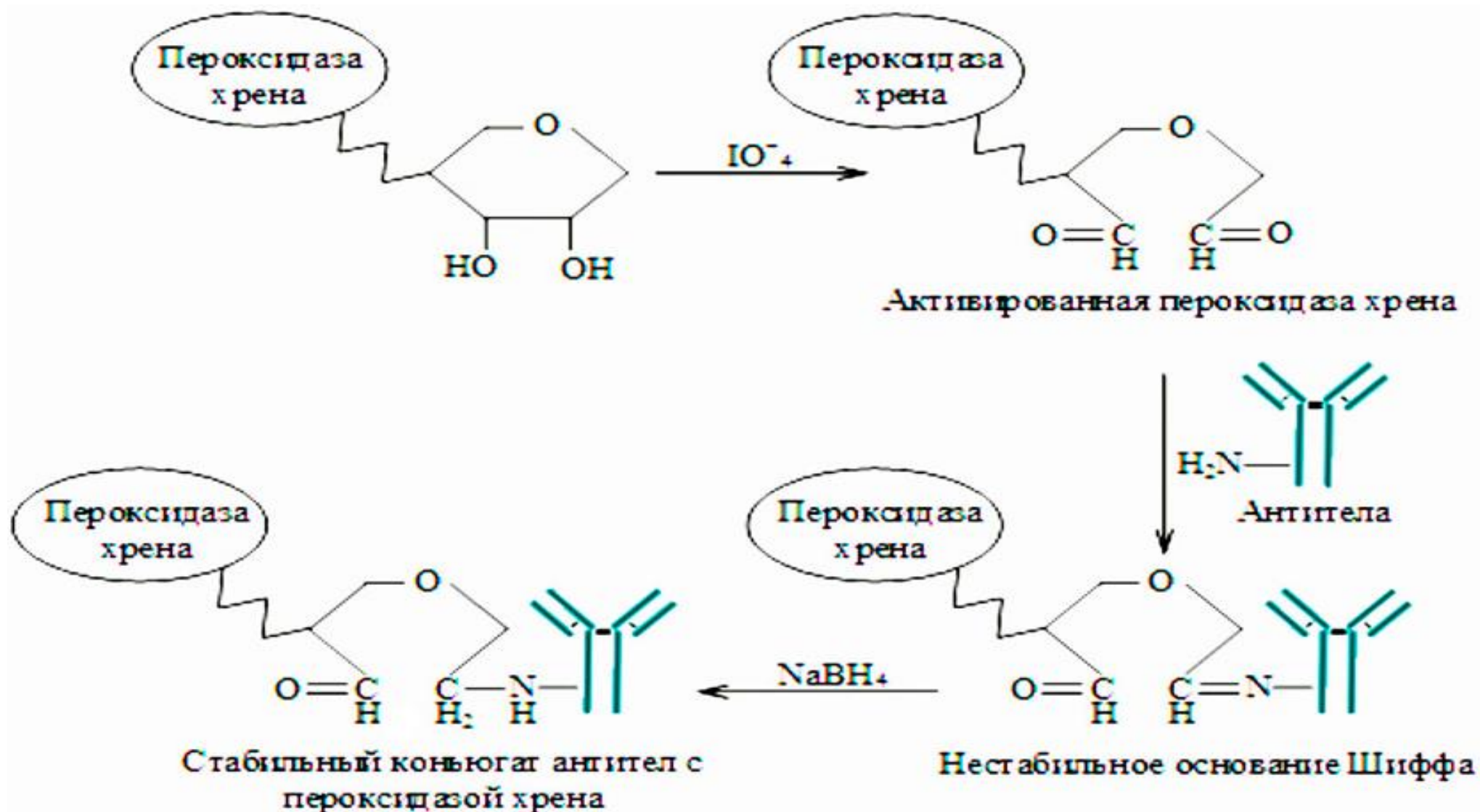
Рекомбинантный С-концевой фрагмент нуклеопротеина



ПС1 – сыворотка мыши, иммунизированной рекомбинантным С-концевым фрагментом нуклеопротеина вируса бешенства; ПС2 – сыворотка мыши, иммунизированной фиксированным вирусом бешенства; ОС – отрицательная сыворотка

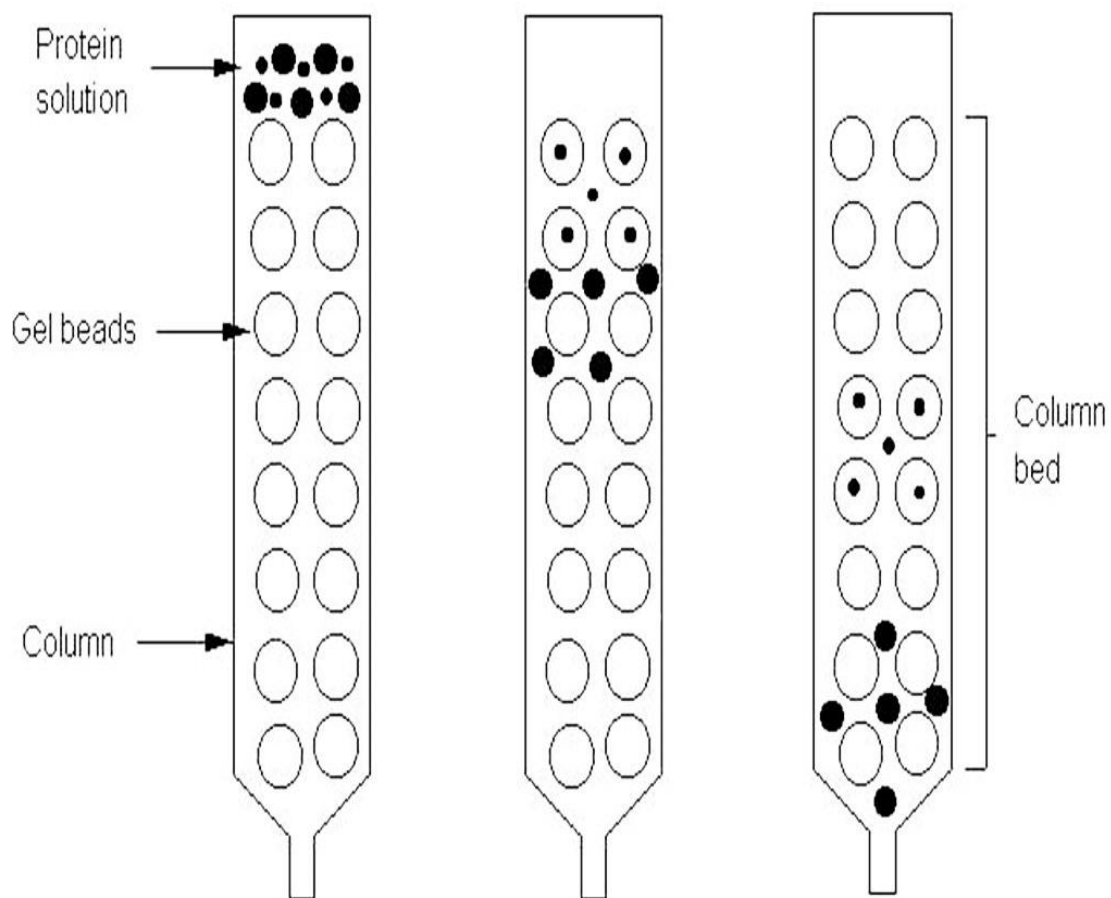
Турсунов К., Бегалиева А., Инірбай Б., Муканов К.К., Раманкулов Е.М., Шустов А.В., Мукантаев К.Н. (2015)
ПОЛУЧЕНИЕ РЕКОМБИНАНТНОГО ИММУНОГЕННОГО ДОМЕНА НУКЛЕОПРОТЕИНА ВИРУСА БЕШЕНСТВА,
БИОТЕХНОЛОГИЯ. ТЕОРИЯ И ПРАКТИКА, 3, 45-53

<https://biotechlink.org/index.php/journal/article/download/205/201/674>



<http://www.bialexa.ru/technical-support/methods/hrp-conjugate/>

Применение эксклюзионной хроматографии или «гельфилтрации», в процессе синтеза конъюгата



Преимущества иммуноферментного анализа

- Специфичность
- Высокая чувствительность
- Вариабельная чувствительность, возможность быстрой адаптации методов под самые разные задачи
- Простота измерения и простота обслуживания приборов, отсутствие необходимости в сложном дорогостоящем оборудовании

БЛАГОДАРЮ
ЗА
ВНИМАНИЕ!

p.a.levashov@mail.ru