Разработка иммуноаналитических систем для определения ЛФ в сыворотке человека.

НИИ Биоорганической химии СО РАН

Лаборатория нуклеиновых кислот.

Мануйлов Н.Л.

с.н.с. к.б.н. Лактионов П.П.

Цель Работы:

- Освоить основные биохимические методы.
- Освоить иммунохимические методы и различные типы иммуноанализа.
- Разработать способ точного определения ЛФ в сыворотке человека.

Характеристика ЛФ

- Белок м.r.78 кДа.
- Белок острой фазы.
- Выявлен в секретах экзокринных желёз, и вторичных гранулах нейтрофилов.
- Высвобождается из секреторных гранул нейтрофилов после стимуляции патогенными микроорганизмами
- Способен обратимо связывать ионы Fe, и тем самым подавлять рост микроорганизмов и опухолей.

Характеристика ЛФ

- ЛФ участвует в неспецифической иммунной защите, является фактором созревания и активатором клеток лимфоидного ряда
- Является внеклеточным транскрипционным фактором.
- Способен регулировать выделение ФНО-α, интерлейкинов 1 и 6 и усиливать фагоцитоз .
- Играет важную роль в нарушениях метаболизма железа при воспалении.

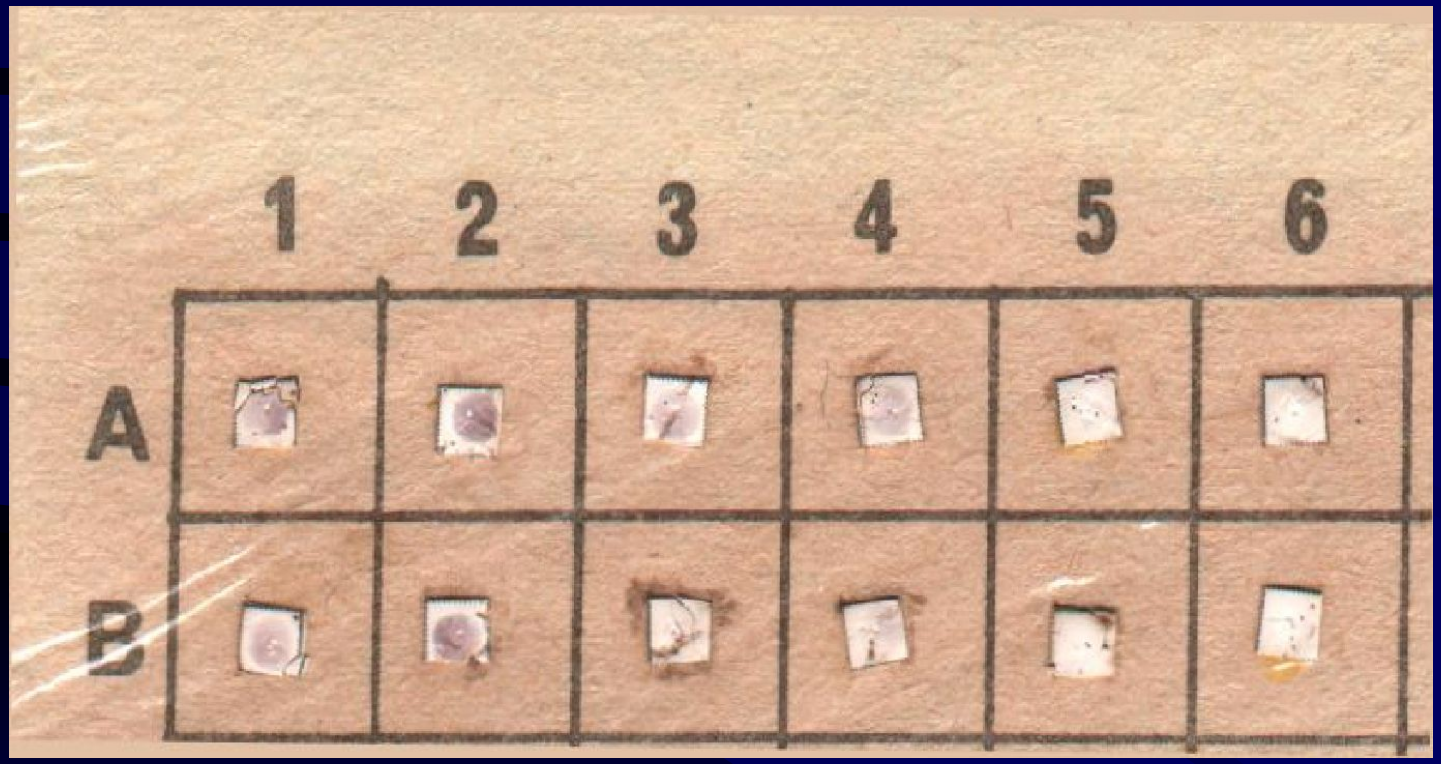
Применение в клинике.

- 1 Уточнение степени активности патологического процесса и оценка эффективности противовоспалительной терапии.
- 2 Оценка тяжести инфекционного поражения и прогнозирование развития послеродовых гнойно-септических осложнений как до их клинической манифестации, так и в ходе развития процесса.
- 3 Оценка состояния иммунной системы для назначения соответствующих иммуномодуляторов при инфекционных, аутоиммуных и других заболеваниях.

Применение в клинике

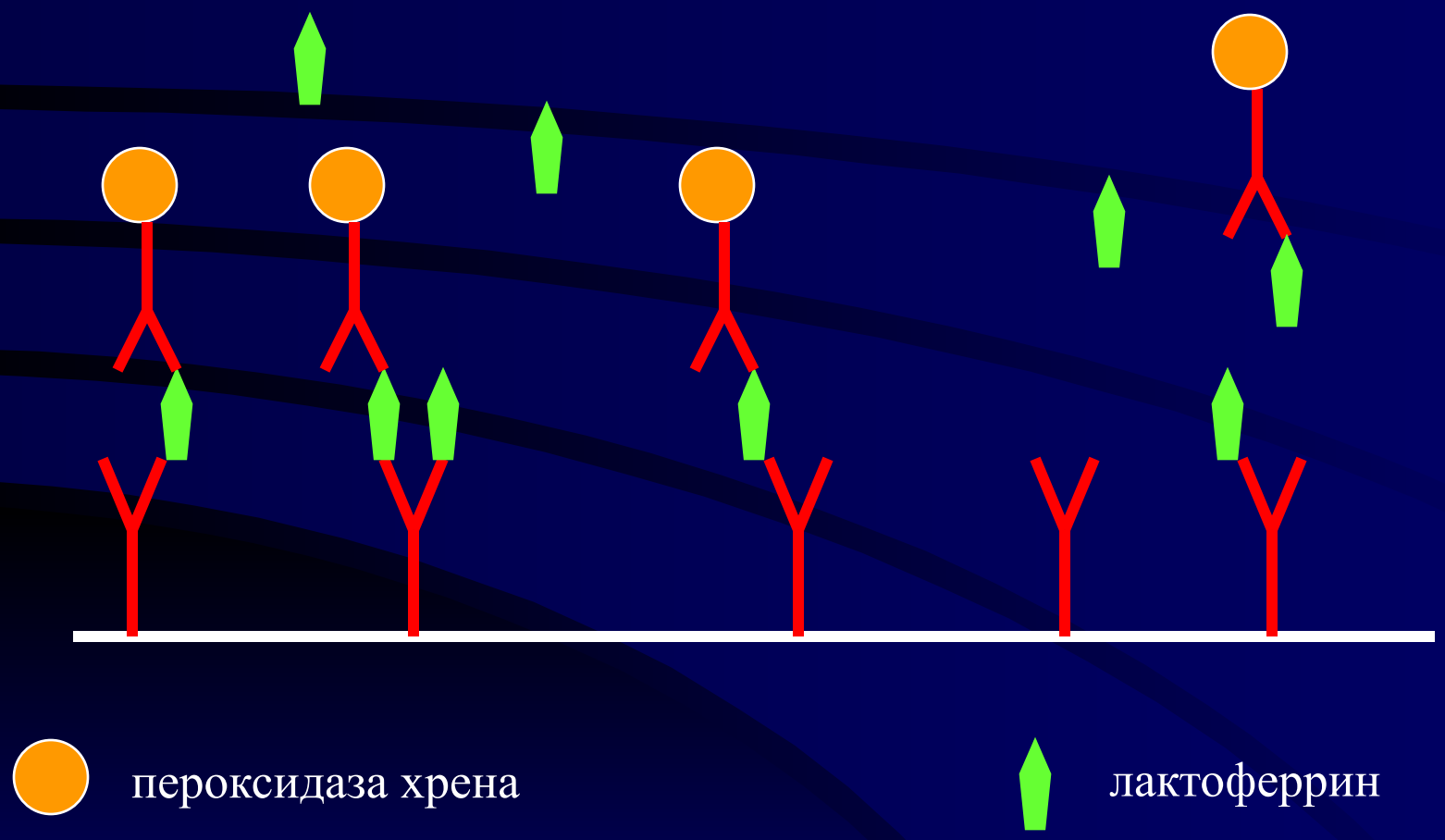
- 4 Диагностика и мониторинг злокачественных новообразований (лимфогранулематоз, лимфо-саркома, лейкозы, рак молочной железы, яичников, пищевода, желудка, кишечника).
- 5 Дифференциальная диагностика рака простаты.
- 6 Оценка эффективности хирургического лечения или химиотерапии, выявление рецидивов опухолей.

Имммунохимический спот анализ конъюгата АТ с пероксидазой хрена

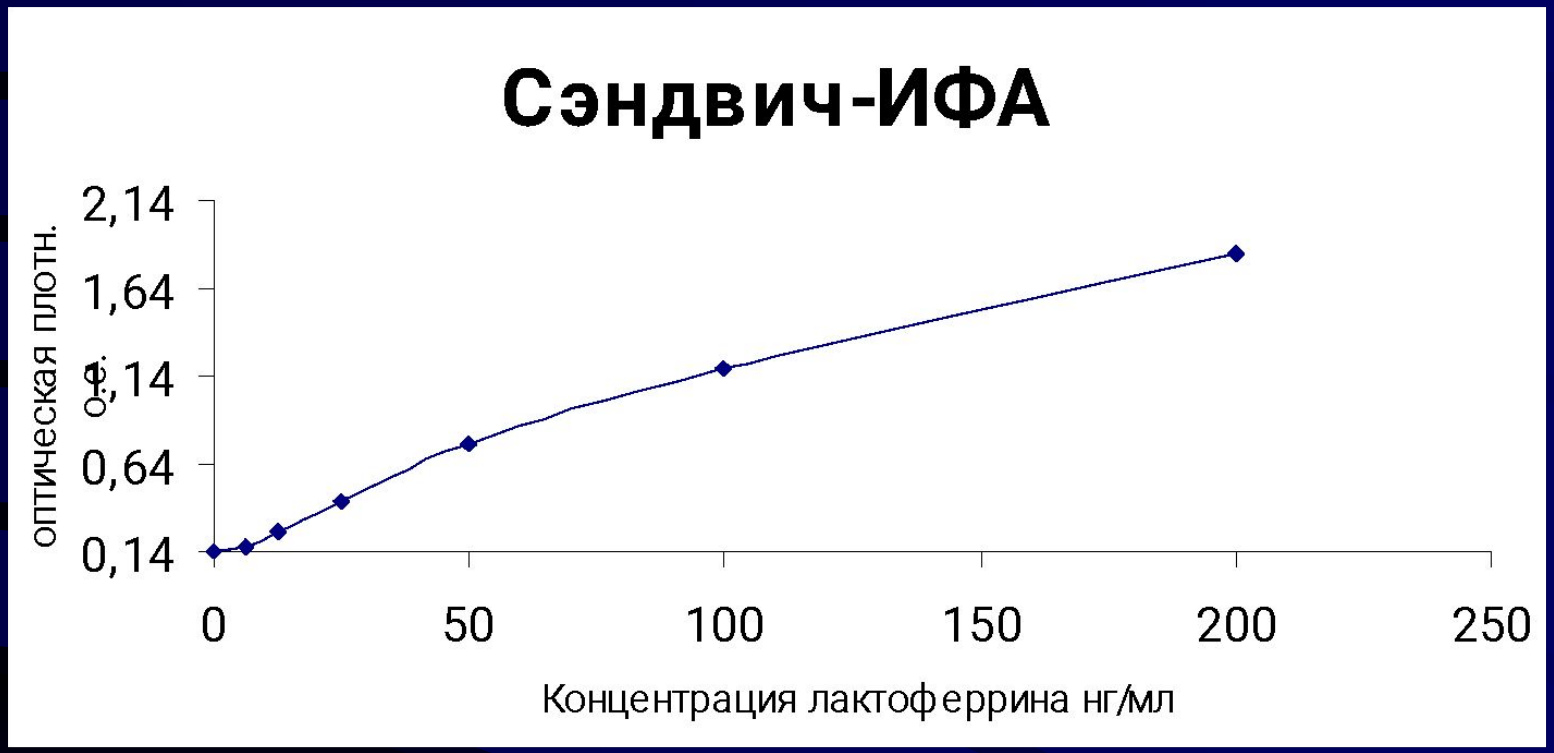


1:100 1:500 1:2500 1:5000 1:10000 К

Механизм сэндвич иммуноанализа.



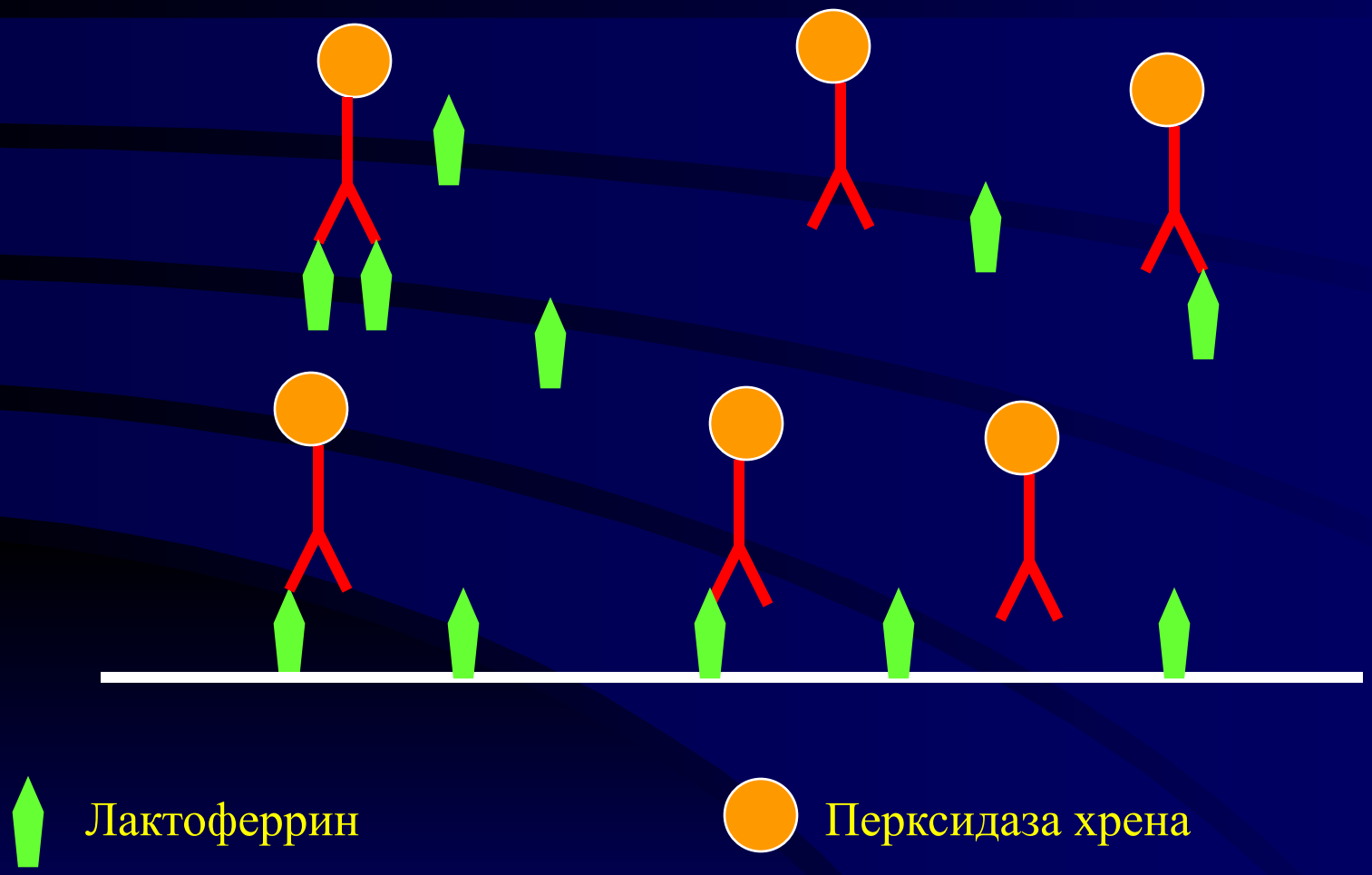
Калибровочная кривая



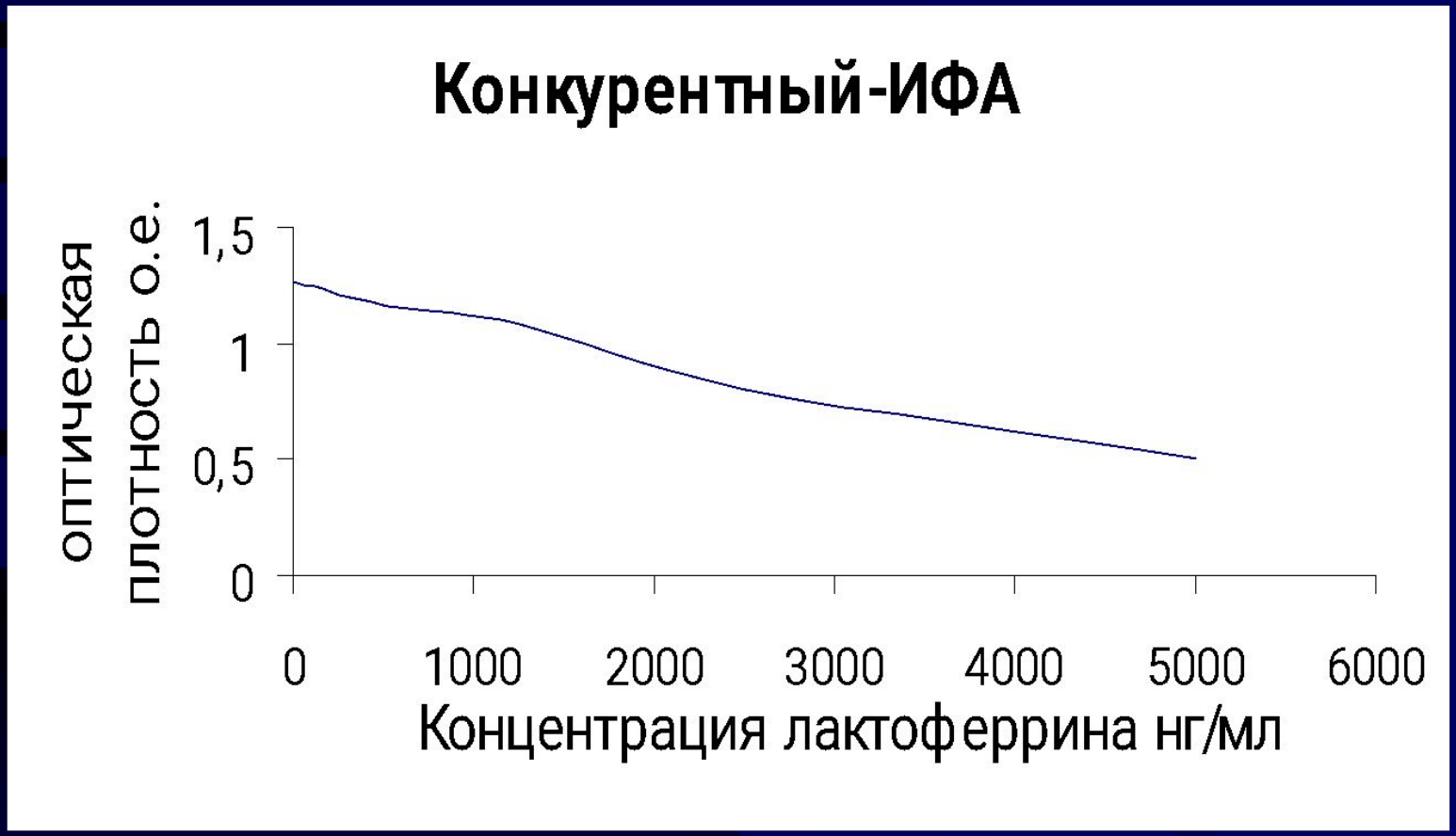
Характеристики системы

- Чувствительность -15 нг./мл.
- Точность-10-12%
- Диапазон определения 15-400нг./мл.
- Специфичность-высокая.

Механизм конкурентного иммуноанализа.



Калибровочная кривая



Характеристика системы

- Чувствительность 30нг./мл.
- Диапазон определения 80-5000нг./мл.
- Точность 10-12%
- Специфичность-высокая

Результаты

- Выделен и очищен иммунологически активный препарат ЛФ.
- Проиммунизированны животные и получены антисыворотки к ЛФ.
- Приготовлен аффинный сорбент с ЛФ и выделены АТ к ЛФ.
- Приготовлен конъюгат АТ против ЛФ и пероксидазы хрена.
- Отработаны и оптимизированны иммуноаналитические системы для определения ЛФ.