Эта часть работы выложена в ознакомительных целях. Если вы хотите получить работу полностью, то приобретите ее воспользовавшись формой заказа на странице с готовой работой:

<https://studservis.ru/gotovye-raboty/kurovaya-rabota/80301>

Тип работы: Курсовая работа

Предмет: Химические технологии

Введение 3

1. Теоретические основы проточной цитометрии 4

2. Проточная цитометрия при анализе вируснейтрализующей активности антирабических сывороток и иммуноглобулина 8

Заключение 19

Список использованных источников 20

Введение

Проточная цитометрия, или flow cytometry – это метод регистрации оптических параметров находящихся в потоке клеток или частиц по сигналам светорассеяния и флуоресценции в режиме поштучного анализа. Для фокусировки клеток в потоке жидкости используется гидродинамическое или акустическое фокусирование, с помощью которого клетки выстраиваются в потоке в ряд, одна за другой. В проточной ячейке клетки облучаются лазером, оптика цитометра собирает световой сигнал от клеток, а электроника преобразует и оцифровывает сигнал для дальнейшего анализа.

На основании вышеизложенного данная тема является актуальной.

Целью курсовой работы является изучение проточной цитометрии (флоуцитометрии).

В соответствии с поставленной целью в ходе работы решается ряд задач, таких как:

- рассмотреть теоретические основы проточной цитометрии;
- проанализировать проточную цитометрию при анализе вируснейтрализующей активности антирабических сывороток и иммуноглобулина.

Объектом исследования является явление проточной цитометрии, предметом – нотариальные действия с рассматриваемыми иностранными элементами.

1. Теоретические основы проточной цитометрии

В проточной цитометрии измеряются следующие параметры:

прямое светорассеяние (рассеяние света под малым углом, FSC) для определения относительного размера клеток или частиц;

боковое светорассеяние (рассеяние света под прямым углом, SSC) для оценки неоднородности внутриклеточного содержимого клетки (например, размеры ядра и гранулярность цитоплазмы);

флуоресценция – для изучения клеточных маркеров с помощью меченных флуорохромными красителями антител к поверхностным и внутриклеточным компонентам клеток. При этом по интенсивности флуоресценции можно судить об экспрессии анти-генов (количестве рецепторов) на клетках.

Самое простое приложение проточной цитометрии – подсчет клеток и оценка их жизнеспособности. Для этого используются классические красители на жизнеспособность, например, наборы LIVE/DEAD kit или Muse® Count and Viability Kit. Набор состоит из одного или нескольких красителей, которые позволяют отличить мертвые клетки или клетки с нарушенной целостностью клеточной мембраны от живых клеток. Проточную цитометрию можно использовать для анализа клеточного цикла. Различные стадии клеточного цикла отличаются по содержанию ДНК в клетке. Наборы для анализа клеточного цикла содержат ДНК-связывающие красители, интенсивность флуоресценции которых пропорциональна количеству ДНК. С помощью гистограммы интенсивности флуоресценции можно выделить клетки в G0/G1, S и G2/M фазах клеточного цикла.

Анализ апоптоза основан на связывании Аннексина V с фосфотидилсерином на поверхности апоптотизирующих клеток. На ранних стадиях апоптоза молекулы фосфотидилсери-на перемещаются на внешнюю сторону клеточной мембраны и способны связываться с Аннексином V. На поздних стадиях апоптоза клетки теряют целостность клеточной мембраны и поглощают краситель, который иначе не смог

бы проникнуть через клеточную мембрану.

Для анализа различных стадий апоптоза проводят определение активированных каспаз в сочетании с красителем, окрашивающим мертвые клетки.

Проточная цитометрия в иммунологии активно используется для иммунофенотипирования клеток крови, позволяет идентифицировать внутриклеточные белки, оценить степень цитотоксичности, и многое другое.

Рисунок 1 - Субпопуляции Т-клеток периферической крови и поверхностные антигены, применяемые для их выявления

* только для научных исследований, не для клинической диагностики

Достаточно быстро проточная цитометрия стала рутинным методом в диагностических лабораториях клиник.

На сегодняшний день проточные цитометры, зарегистрированные Росздравнадзором, в лабораторной диагностике активно используют для оценки иммунного статуса пациента (для этого используют такие поверхностные маркеры, как CD3, CD4, CD8, CD 19, CD 20, CD22 и т.д.), оценку иммунологического фенотипа нормальных и опухолевых клеток для своевременной постановки диагноза, а также отслеживание острых лейкозов в ходе лечения. Большой вклад проточная цитометрия внесла в диагностику гемобластозов.

Для работы на проточных цитометрах используются как клеточные красители, так и моноклональные антитела для проточной цитометрии для научных, так и клинических приложений. Антитела отличаются как по мишени и видоспецифичности, так и по конъюгированным с антителами флуоресцентным меткам. В зависимости от конфигурации проточного цитофлюориметра (длин волн и количества лазеров и флуоресцентных каналов) можно создавать многоцветные панели из антител.

Таблица 1 - Флуорохромы, наиболее часто используемые для прямой конъюгации с моноклональными антителами

Список использованных источников

1. Вишняков И.Ф., Недосеков В.В., Груздев К.Н., Балышев В.М., Жестерев В.И., Горшкова Т.Ф. Способ определения антирабических вируснейтрализующих антител. Патент РФ 2130187. Оpubл. 10.05.1999. [Vishnjakov I.F., Nedosekov V.V., Gruzdev K.N., Balyshev V.M., Zhesterev V.I., Gorshkova T.F. Method of assay of antirabies virus-neutralizing antibodies. Patent RF 2130187. Publ. 10.05.1999. (In Russ.)]
2. Гаврилова Ю.К., Генералов С.В., Абрамова Е.Г., Савицкая Л.В., Галкина М.В., Кочкин А.В. Экспресс-анализ активности антирабических сывороток и иммуноглобулина в клеточных культурах методом иммунофлуоресценции // Биотехнология. 2018. Т. 34, № 4. С. 83–88. [Gavrilova Yu.K., Generalov S.V., Abramova E.G., Savitskaya L.V., Galkina M.V., Kochkin A.V. Express analysis of activity of anti-rabies serum and anti-rabies immuno-globulin in cell cultures by immunofluorescence method. Biotekhnologiya = Biotechnology, 2018, vol. 34, no. 4, pp. 83–88. doi: 10.21519/0234-2758-2018-34-4-83-88 (In Russ.)]
3. Генералов С.В., Абрамова Е.Г., Савицкая Л.В., Лобовикова О.А., Никифоров А.К. Программа для расчета результатов реакции нейтрализации вируса бешенства на белых мышах по методу Рида и Менча. Свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ № 2016617051. 23 июня 2016 г. [Generalov S.V., Abramova E.G., Savitskaya L.V., Lobovikova O.A., Nikiforov A.K. The program for calculating the results of the neutralization reaction of rabies virus on white mice according to the method of Reed and Muench. Certificate of state registration of the computer program. No. 2016617051. June 23, 2016 (In Russ.)]
4. Кравцов А.Л., Генералов С.В., Кожевников В.А., Гаврилова Ю.К., Абрамова Е.Г., Кочкин А.В., Никифоров А.К. Определение доли инфицированных вирусом бешенства клеток линии Vero с помощью проточной цитометрии // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии. 2018. № 3. С. 18–25. [Kravtsov A.L., Generalov S.V., Kozhevnikov V.A., Gavrilova Yu.K., Abramova E.G., Kochkin A.V., Nikiforov A.K. Determination of the rabies virus infected Vero line cell portion by flow cytometry. Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii = Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology, 2018, no. 3, pp. 18–25. (In Russ.)]
5. Лакин Г.Ф. Биометрия. М.: Высшая школа, 1990. 352 с. [Lakin G.F. Biometry. Moscow: High school, 1990. 352 p. (In Russ.)]
6. Онищенко Г.Г., Попова А.Ю., Ежлова Е.Б., Демина Ю.В., Пакскина Н.Д., Писцов М.Н., Рубцов В.В.,

- Суровяткин А.В., Петров А.А., Казанцев А.В., Бережной А.М., Зверев А.Ю., Маношкин А.В., Кротков В.Т., Кутаев Д.А., Максимов В.А., Кузнецов С.Л., Вах-нов Е.Ю., Тимофеев М.А., Мовсесянц А.А., Борисевич С.В. Эпидемиологическая обстановка и вопросы идентификации вируса бешенства среди людей на территории Российской Федерации в период 2002– 2015 гг. // Проблемы особо опасных инфекций. 2017. № 3. С. 27–32. [Onishchenko G.G., Popova A.Yu., Ezhlova E.B., Demina Yu.V., Pakskina N.D., Pistsov M.N., Rubtsov V.V., Surovyatkin A.V., Petrov A.A., Kazantsev A.V., Berzhnoy A.M., Zverev A.Yu., Manoshkin A.V., Krotkov V.T., Kutaev D.A., Maksimov V.A., Kuznetsov S.L., Vakhnov E.Yu., Timopheyeu M.A., Movsesyants A.A., Borisevich S.V. Epidemiological situation and problems of identification of rabies virus in humans in the territory of the Russian Federation during the period of 2002–2015. Problemy osobo opasnykh infektsiy = Problems of Particularly Dangerous Infections, 2017, no. 3, pp. 27–32. doi: 10.21055/0370-1069-2017-3-27-32 (In Russ.)]
7. Сибиряк С.В., Хайдуков С.В., Зурочка А.В. Оценка апоптоза в иммунологических исследованиях. Вопросы современной проточной цитометрии. Клиническое применение. Челябинск: Бумажный двор, 2008. 195 с. [Sibiryak S.V., Khaidukov S.V., Zurochka A.V. Evaluation of apoptosis in immunological studies. Issues of modern flow cytometry. Clinical application. Chelyabinsk: Paper yard, 2008. 195 p. (In Russ.)]
8. Фрешни Р.Я. Культура животных клеток: практическое руководство. М.: БИНОМ. Лаборатория знаний, 2010. 691 с. [Freshney R.Y. Culture of animal cells: a practical guide. Moscow: BINOM. Laboratory of Knowledge, 2010. 691 p. (In Russ.)]
9. Bedekovic T., Lemo N., Lojkic I., Mihaljevic Z., Jungic A., Cvetnic Z., Cac Z., Hostnik P. Modification of the fluorescent antibody virus neutralization test — elimination of the cyto-toxic effect for the detection of rabies virus neutralising antibodies. J. Virol. Methods, 2013, vol. 189, no. 1, pp. 204–208. doi: 10.1016/j.jviromet.2013.01.022
10. Bordignon J., Ferreira S., Caporale G., Carreri M.L., Kotait I., Lima H.C. Zanetti C.R. Flow cytometry assay for intracellular rabies virus detection. J. Virol. Methods, 2002, vol. 105, no. 1, pp. 181–186. doi: 10.1016/S0166-0934(02)00064-2
11. Bordignon J., Comin F., Ferreira S., Caporale G., Lima Filho J.H., Zanetti C.R. Calculating rabies virus neutralizing antibodies titres by flow cytometry. Rev. Inst. Med. Trop. Sao Paulo, 2002, vol. 44, no. 3, pp. 151–154.
12. Meslin F.-X., Kaplan M.M., Koprowski H. Laboratory techniques in rabies. 4th ed. Geneva, Switzerland: WHO, 1996, 476 p.
13. Vengatesan D., Raj G.D., Raja A., Ramadass P., Gunaseelan L. Detection of rabies virus antigen or antibody using flow cytometry. Cytometry. 2006, vol. 70B, no. 5, pp. 335–343. doi: 10.1002/cyto.b.20104
14. WHO Expert Consultation on Rabies: second report. WHO technical report series 982. Geneva, Switzerland, 2013, 139 p.

Эта часть работы выложена в ознакомительных целях. Если вы хотите получить работу полностью, то приобретите ее воспользовавшись формой заказа на странице с готовой работой:

<https://studservis.ru/gotovye-raboty/kurovaya-rabota/80301>