

МИНОБРНАУКИ РОССИИ
Восточно-Сибирский государственный университет технологий и управления
Кафедра «Биотехнология»

**МЕТОДИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ ПО ОРГАНИЗАЦИИ
ИЗУЧЕНИЯ ДИСЦИПЛИНЫ**

«Теоретические и практические основы иммуноферментного анализа»
для бакалавров направления 19.03.01 «Биотехнология»

1. МЕТОДИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ ДЛЯ ОБУЧАЮЩИХСЯ

1.1. Методические рекомендации по организации изучения дисциплины и осуществлению контрольных мероприятий

1.1.1 Планирование и организация изучения дисциплины.

Планирование и организация изучения дисциплины приведены в технологической карте работы студента и преподавателя, которая включает:

- наименование раздела и темы лекционного курса с указанием формы контроля (тестирование), даты проведения и присваиваемых баллов по каждой контрольной процедуре;
- наименование и количество практических занятий с указанием тематик и присваиваемых баллов, как по разделам, так и в целом по блоку.
- практические работы, проводимые в интерактивной форме с указанием формы контроля, дат проведения и присваиваемых баллов;
- содержание СРС (перечень тем рефератов и докладов к семинарам; варианты расчётно-графической работы) с указанием форм контроля, даты проведения и присваиваемых баллов.

С технологической картой обучающийся может ознакомиться в личном кабинете ЭИОС университета.

1.1.2 Планируемые результаты обучения

В результате совместной (с преподавателем) и индивидуальной (самостоятельной) деятельности в процессе изучения дисциплины студент должен **демонстрировать** следующее:

ОПК 1 - владеть основными методами и приемами проведения экспериментальных исследований в своей профессиональной области

- **Знать:** сущность и классификацию методов ИФА, достоинства и недостатки, области применения ИФА

- **Уметь:** оценивать преимущества того или иного метода ИФА, объяснять выбор той или иной модификации для определения антигенов и антител

- **Владеть:** теоретическими основами методики ИФА, выбором методов ИФА при диагностике различных заболеваний

ОПК 2 - Способность и готовность использовать основные законы естественнонаучных дисциплин в профессиональной деятельности, применять методы математического анализа и моделирования, теоретического и экспериментального исследования

- **Знать:** принцип метода ИФА, классификацию методов ИФА, области применения ИФА, методы математического анализа и моделирования

- **Уметь:** использовать знания методов ИФА для выбора той или иной модификации для определения антигенов и антител.

- **Владеть:** теоретическими основами методик постановки ИФА; выбором методов ИФА при диагностике различных заболеваний; методами обработки и анализа экспериментальных данных

2.3. Система контроля.

Измерению и оценке подлежат все результаты обучения по всем видам учебной деятельности путем опросов, самостоятельно выполненных бакалаврами работ, предусмотренных программой курса.

1.2. Форма и методика проведения текущего контроля успеваемости и промежуточной аттестации бакалавров

Таблица 1 – Итоговая шкала оценки

Трудоёмкость дисциплины		Итоговая оценка по дисциплине											РС
		Неу д. 2	Удовлетворительно 3					Хорошо 4			Отлично 5		
ЗЕТ	Махбалл		F	D	D+	C-	C	C+	B-	B	B+	A-	A
2	72	0-35	36-39	40-42	43-46	47-49	50-53	54-57	58-60	61-64	65-67	68-72	Баллы

Распределение баллов по видам работ.

В таблицах 2 представлены совокупности контрольных мероприятий и распределение баллов по соответствующим видам учебной деятельности. Исходя из трудоёмкости дисциплины, составляющей 2 ЗЕТ, максимальный балл составляет 72.

Таблица 2 – Контрольные мероприятия и распределение баллов по видам работ

№	Наименование разделов	Форма оценки теоретической составляющей	Баллы	Форма оценки практической составляющей	Баллы	Форма оценки СРС	Баллы
1	Раздел 1	-	-	Защита практических работ 1-8	48	опрос	
	Промежуточная аттестация (тестирование)		24				
Итого: 72 (максибалл)			24		48		-

В таблице 3 представлены баллы по видам контрольных мероприятий, начисляемые в зависимости от уровня качества содержания с учётом поправочного коэффициента.

Таблица 3 - Шкала скидки баллов по уровням качества содержания

№	Форма оценки	Отлично (1,0)	Хорошо (0,75)	Удовл – но (0,5)	Неудовл – но (0,0)
1	Защита практических работ 1-8	48	36	24	0,0
2	Промежуточная аттестация	24	18	12	0,0

При несвоевременном выполнении работ обучающемуся начисляются баллы, равные максимальному баллу этого испытания с учётом поправочного коэффициента.

Таблица 4 - Шкала скидки баллов по срокам выполнения работ

	Наименование работ	В срок (1,0)	Позже срока на 2-7 (0,85)	Позже срока на 8-14 (0,7)	Работа не представлена (0,0)
1	Защита практических работ 1-8	48	41	34	0,0
2	Промежуточная аттестация	24	20	17	0,0

При повторной защите практических работ и СРС итоговый балл этого испытания снижается на 0,5 балла.

1.3. Тематический план дисциплины

Раздел 1. Теоретические и практические основы иммуноферментного анализа (ИФА)

Тема 1. Структура и свойства антигенов и антител

Тема 2. Физико-химические закономерности взаимодействия антиген-антитело. Ферменты как метки в иммуноанализе.

Тема 3. Методы иммуноферментного анализа

Тема 4. Получение антисывороток и поликлональных антител. Моноклональные антитела и их применение в анализе

Тема 5. Методы получения конъюгатов для иммуноферментного анализа

Тема 6. Получение и свойства иммобилизованных антител и антигенов

Тема 7. Теоретические основы иммуноферментного анализа

Тема 8. Методы представления и обработки экспериментальных данных. Примеры практического применения ИФА.

1.4. Перечень учебно-методического обеспечения для СРС

Для подготовки к практическим занятиям:

1. Теория и практика иммуноферментного анализа: [Учеб. пособие для вузов] / А.М. Егоров, А.П. Осипов, Б.Б. Дзантиев и др. - М. : Высшая школа, 1991. - 288 с.

1.5. Список основной и дополнительной литературы, учебно-методических материалов, нормативных документов, современных профессиональных баз данных и информационно-справочных систем, рекомендованных в рабочей программе дисциплины

№	Наименование Учебно-методического материала	3	4
Перечень основной учебной литературы			
1	Галактионов, Вадим Геллиевич. Иммунология : Учеб. для вузов по напр. 510600 "Биология" и биолог. спец. / В.Г. Галактионов. - Academia, 2004. - 524 с.	13	50%
2	Койко, Ричард. Иммунология : учеб. пособие [для вузов] / Р. Койко, Д. Саншайн, Э. Бенджамини. - Академия, 2008. - 365 с.	10	
3	Теория и практика иммуноферментного анализа: [Учеб. пособие для вузов] / А.М. Егоров, А.П. Осипов, Б.Б. Дзантиев и др. - М. : Высшая школа, 1991. - 288 с. :	Эл. вар. на каф.	-
Перечень дополнительной литературы			
4	Практикум по иммунологии : Учеб. пособие для вузов по напр. 510600 и спец. 011600 "Биология" / Под ред. И.А. Кондратьевой, А.А. Ярилина. - 2-е изд., испр. и доп. - М. : Академия, 2004. - 271 с.	15	50%
Методические указания для обучающихся (МУ)			
4	МР по организации изучения дисциплины		100%
Нормативные документы (на кафедре)			
Лицензионное программное обеспечение			
5	MS Office 2013		100%
Современные профессиональные базы данных и информационно-справочные системы			
6	ГОСТ Эксперт. Единая база ГОСТов РФ (gostexpert.ru) и ИНФОРМИО		100%
Периодические издания			
7	Журнал "Биотехнология"		

2. МЕТОДИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ ДЛЯ ПРЕПОДАВАТЕЛЯ

2.1. Рекомендации по формированию содержания теоретического материала по темам

Теоретическое содержание дисциплины состоит в рассмотрении основных положений и теоретических вопросов в данной области будущей профессиональной деятельности обучающихся.

Содержание практических занятий конкретизировано в соответствии с элементами теоретического, практического изучения и применения объектов, образующих предмет изучения дисциплины и включающих:

- основные понятия и их определения;
- особенности строения и функционирования объектов, их основные свойства, характеристики, параметры;
- задачи (проблемы) теоретического и/или практического изучения объектов, их создания и применения;
- методы, средства и способы их теоретического и/или практического изучения и совершенствования;
- методы, средства и способы качества объектов;
- современные тенденции и перспективы развития науки и практики в данной предметной области.

Ниже перечислены основные теоретические вопросы и понятия, подлежащие усвоению и изложению:

Раздел 1. Теоретические и практические основы иммуноферментного анализа (ИФА)

Структура и свойства антигенов и антител. Физико-химические закономерности взаимодействия антиген-антитело. Ферменты как метки в иммуноанализе. Методы иммуноферментного анализа. Получение антисывороток и поликлональных антител. Моноклональные антитела и их применение в анализе. Методы получения конъюгатов для иммуноферментного анализа. Получение и свойства иммобилизованных антител и антигенов. Теоретические основы иммуноферментного анализа. Методы представления и обработки экспериментальных данных. Примеры практического применения ИФА.

Уровень освоения теоретической части дисциплины оценивается в процессе устного опроса (см. Раздел 8, п.8.3 рабочей программы).

2.2. Методические рекомендации по организации практических занятий

Прикладная часть дисциплины реализуется на практических занятиях, ведущей дидактической целью которых является формирование профессиональных умений - выполнять определенные действия, операции, необходимые в последующем в профессиональной деятельности, решать задачи и др., позволяют привить практические навыки самостоятельной работы с учебной, методической и научной литературой (в процессе подготовки к занятию), получить опыт публичных выступлений.

На занятиях студенты овладевают первоначальными профессиональными умениями и навыками, которые в дальнейшем закрепляются и совершенствуются в процессе выполнения курсовой работы, прохождения производственной практики и подготовки выпускной квалификационной работы.

Для выполнения занятий имеются методические указания для студентов оформленные отдельными брошюрами.

На первом практическом занятии преподаватель обязан представить студентам всю информацию по организации изучения дисциплины. Для оптимизации временных затрат по информированию студентов преподавателю рекомендуется разработать технологическую карту работы студента и преподавателя, включающую:

- наименование раздела и темы лекционного курса с указанием формы контроля (тестирование), даты проведения и присваиваемых баллов по каждой контрольной процедуре;
- наименование и количество практических занятий с указанием тематик и присваиваемых баллов, как по разделам, так и в целом по блоку.
- практические работы, проводимые в интерактивной форме с указанием формы контроля, дат проведения и присваиваемых баллов;
- содержание СРС с указанием форм контроля, даты проведения и присваиваемых баллов.

Рекомендуемая форма представлена в приложении к методическим рекомендациям.

Содержание и методика проведения работ, деятельность обучающихся в процессе выполнения заданий приведены в соответствующих методических указаниях (ссылка на рекомендуемые УММ приведена в табл. 4 рабочей программы).

Уровень освоения практической части оценивается в процессе защиты отчетов по выполненным работам в рамках раздела. Баллы присваиваются только при полной сдаче работ по разделу с учётом соблюдения студентами сроков и требований к содержанию в соответствии со шкалой скидки баллов.

2.3. Методические рекомендации по организации самостоятельной работы

Самостоятельная работа студентов по данной дисциплине включает:

- подготовка к практическим занятиям (подготовка ответов на контрольные вопросы, оформление выполненных работ);
- подготовка к промежуточной аттестации (тестирование).

Для бакалавров заочной формы обучения предусмотрено выполнение контрольной работы.

Уровень компетенций, сформированных в результате выполнения работ, осваиваемых

самостоятельно, оценивается в процессе их защит в соответствии с балльно-рейтинговой системой.

Типовые контрольные задания и материалы, необходимые для оценки знаний, умений и навыков

Домашняя контрольная работа

Вопросы:

1. Современный иммунохимический анализ. Общая характеристика иммуноферментного анализа; преимущества и недостатки фермент-зависимых меток. Области применения ИФА.
2. Антигены. Структурные основы антигенной специфичности белков, полисахаридов, нуклеиновых кислот. Гаптены. Использование гаптенных для изучения специфичности антигенных детерминант, работы К. Ландштейнера. Требования, предъявляемые к антигенам, используемым в ИФА в качестве меченых препаратов и стандартов.
3. Антитела. Общая характеристика структуры молекул иммуноглобулинов. Первичная структура Н- и L-цепей иммуноглобулинов. Трехмерная структура иммуноглобулинов. Антигенсвязывающие центры антител. Характеристика классов иммуноглобулинов: IgG, IgA, IgM, IgE, IgD.
4. Специфичность и гетерогенность антител, перекрестная реактивность. Понятие аффинности и авидности антител.
5. Термодинамические и кинетические закономерности реакции взаимодействия антиген-антитело. Методы определения аффинности антител: равновесный диализ, фракционное осаждение, флуоресцентные методы. Способы расчета констант комплексообразования реакции антиген-антитело: взаимодействие одной субпопуляции антител с моновалентным антигеном; взаимодействие одной субпопуляции антител с поливалентным антигеном; взаимодействие двух субпопуляций антител с моновалентным антигеном; взаимодействие поликлональной антисыворотки с антигеном.
6. Основные понятия и термины, используемые в энзимологии. Физико-химические и каталитические свойства ферментов. Кинетические закономерности протекания ферментативных реакций. Экспериментальные методы определения ферментативной активности. Критерии выбора ферментных меток. Характеристика ферментов, используемых в ИФА в качестве меток: пероксидаза хрена, глюкозооксидаза, щелочная фосфатаза, α -D-галактозидаза, глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа, малатдегидрогеназа. Факторы, влияющие на активность ферментов при проведении ИФА.
7. Получение антител. Иммуногенность антигенов. Антисыворотки как источники поликлональных антител. Иммунизация, факторы, влияющие на успех иммунизации: природа и доза иммуногена. Использование адьюванта, вид взятых для иммунизации животных, способ иммунизации, порядок и время введения антигена и сбора антисыворотки. Хранение антисывороток. Тестирование антисывороток.
8. Моноклональные антитела. Получение гибридом. Использование моноклональных антител в иммуноанализе.
9. Выделение и очистка антител из различных источников: осаждение сульфатом аммония, хроматография, иммуноадсорбция.
10. Получение иммобилизованных антител и антигенов: носители, применяемые в ИФА; иммобилизация антител и антигенов; неспецифическое связывание с иммуносорбентом. Свойства иммобилизованных антител.
11. Получение конъюгатов: синтез конъюгатов гаптенных с носителями для получения антител; получение конъюгатов фермент-белок; получение конъюгатов гаптен-фермент; получение конъюгатов антигенов (антител) с субстратами.
12. Общая классификация методов ИФА: анализ типа 1 и анализ типа 2; конкурентные и неконкурентные, гетерогенные и гомогенные, твердофазные и гомогенно-гетерогенные методы анализа.
13. Гетерогенные методы ИФА антигенов и антител: методы, основанные на определении специфических иммунных комплексов (тип 1); конкурентные и неконкурентные методы, основанные на определении оставшихся свободными центров специфического связывания (тип

- 2). Методы гетерогенного ИФА, основанные на нековалентном способе введения ферментной метки. Твердофазный ИФА в проточных системах. Новые подходы в гетерогенном ИФА.
14. Гомогенные методы ИФА: методы анализа антигенов, основанные на использовании меченных ферментом антигенов; методы ИФА антигенов, основанные на использовании неферментных меток.
15. Люминесцентный иммуноанализ.
16. Направления и перспективы развития ИФА.
17. Анализ результатов определения антигена. Особенности анализа экспериментальных данных определения антител. Источники ошибок при проведении ИФА.
18. Параметры, характеризующие ИФА: предел обнаружения, длительность, точность и специфичность.
- Контрольная работа состоит из 3 вопросов. Выбор вопросов - по согласованию с преподавателем.

Индивидуальное задание

ИЗ 1: "ИЗ-1"

Содержание:

Структура и свойства антигенов и антител.

Вопросы:

1. Основные иммунохимические понятия.
2. Биосинтез антител.
3. Структура и специфичность антигенов.
4. Общая структурная характеристика молекул иммуноглобулинов.
5. Первичная структура H- и L- цепей иммуноглобулинов.
6. Трехмерная структура иммуноглобулинов.
7. Антигенсвязывающие центры антител.

ИЗ 2: "ИЗ-2"

Содержание: .

Физико-химические закономерности взаимодействия антиген-антитело. Ферменты как метки в иммуноанализе.

Вопросы:

1. Иммунологическая специфичность.
2. Взаимодействие антигена с субпопуляцией антител.
3. Методы определения аффинности антител.
4. Способы расчета констант комплексообразования реакции антиген-антитело.
5. Кинетические закономерности реакции взаимодействия антиген-антитело.
6. Основные физико-химические и каталитические свойства ферментов.
7. Ферменты, используемые в ИФА в качестве меток.
8. Характеристика ферментов, используемых в ИФА.

ИЗ 3: "ИЗ-3"

Содержание:

Методы ИФА. Получение антисывороток и поликлональных антител.

Вопросы:

1. Классификация методов ИФА.
2. Классификация гетерогенных методов ИФА.
3. Сравнительная оценка различных схем проведения гетерогенного ИФА.
4. Методы гетерогенного ИФА, основанные на нековалентном способе введения ферментной метки.
5. Твердофазный ИФА в проточных системах.
6. Новые подходы в гетерогенном ИФА.
7. Гомогенные методы ИФА.
8. Люминесцентный иммуноанализ.

ИЗ 4: "ИЗ-4"

Содержание:

Моноклональные антитела и их применение в анализе. Методы получения конъюгатов для ИФА.

Вопросы:

1. Получение гибридом.
2. Использование моноклональных антител в иммуноанализе.
3. Синтез конъюгатов гаптен-носителей для получения антител.
4. Получение конъюгатов фермент-белок.
5. Получение конъюгатов гаптен-белок.
6. Получение конъюгатов антигенов (антител) с субстратами.

ИЗ 5: "ИЗ-5"

Содержание:

Получение и свойства иммобилизованных антител и антигенов

Вопросы:

1. Носители, применяемые в ИФА.
2. Иммобилизация антител.
3. Иммобилизация антигенов.
4. Неспецифическое связывание с иммуносорбентом.
5. Некоторые свойства иммобилизованных антител.

ИЗ 6: "ИЗ-6"

Содержание:

Теоретические основы ИФА.

Вопросы:

1. Теоретические закономерности конкурентного ИФА.
2. Метод последовательного насыщения.
3. "Сэндвич"-метод.
4. Конкурентный метод с использованием меченых антивидовых антител.

ИЗ 7: "ИЗ-7"

Содержание:

Методы представления и обработки экспериментальных данных.

Вопросы:

1. Анализ результатов определения антигена.
2. Определение антител.
3. Анализ экспериментальных данных.

ИЗ 8: "ИЗ-8"

Содержание:

Практическое применение ИФА.

Вопросы:

1. Определение антител против вируса типа А.
2. Определение поверхностного антигена вируса гепатита В.
3. Определение ротавируса и специфических антител.
4. Определение вирусов картофеля.
5. Определение инсулина в сыворотке крови человека.
6. Определение тироксина.
7. Определение тестостерона.