

Περιεχόμενα

Πρόλογος Γ' έκδοσης	9
Το ανοσοβιολογικό σύστημα: Ρόλος και λειτουργία	11
1. ΛΕΜΦΙΚΑ ΟΡΓΑΝΑ ΤΟΥ ΑΡΟΥΡΑΙΟΥ	13
1.1. Σύνθεση αίματος	15
1.1.1. Οροπρωτεΐνες	15
1.1.2. Κύτταρα αίματος	16
1.2. Μορφολογία κυττάρων λεμφικών οργάνων και αίματος ...	16
1.2.1. Φίλμ αίματος	17
1.2.2. Επιχρίσματα κυτταρικών αιωρημάτων	17
1.2.3. Παρασκευή ρυθμιστικού διαλύματος φωσφορικών (PBS) ..	18
1.3. Χρώση των επιχρισμάτων	19
1.3.1. Ρυθμιστικό διάλυμα Giemsa	19
1.3.2. Εξέταση των επιχρισμάτων	20
2. ΜΕΤΡΗΣΗ ΚΥΤΤΑΡΩΝ	21
2.1. Μέτρηση ερυθροκυττάρων	21
Αιμοκυτταρόμετρο Neubauer	22
2.2. Μέτρηση λευκοκυττάρων	23
3. ΜΕΤΡΗΣΗ ΖΩΝΤΑΝΩΝ ΚΑΙ ΝΕΚΡΩΝ ΛΕΜΦΟΚΥΤ- ΤΑΡΩΝ	25
3.1. Δοκιμασία αποκλεισμού χρωστικής . Υπολογισμός αριθμού κυττάρων στο αιμοκυτταρόμετρο Bürger	25
4. ΔΙΑΧΩΡΙΣΜΟΣ ΛΕΜΦΟΚΥΤΤΑΡΩΝ ΑΠΟ ΕΡΥΘΡΟ- ΚΥΤΤΑΡΑ	28
4.1. Καθίζηση με Dextran	28
4.2. Διαχωριστική φυγοκέντρηση	28
4.3. Λύση των ερυθροκυττάρων	31
5. ΚΥΤΤΑΡΙΚΟ ΔΥΝΑΜΙΚΟ - ΦΑΓΟΚΥΤΤΑΡΑ	32
5.1. Έμφυτη ανοσία	32
5.2. Κάθαρση αδρομερών ξένων υλικών από το ΔΕΣ	32
5.3. Φαγοκύτταρα από την περιτοναϊκή κοιλότητα	33
5.3.1. Φαγοκυττάρωση ζυμομυκήτων	34
5.4. Στατιστικές παράμετροι	36

5.4.1. Αριθμητικός μέσος όρος	36
5.4.2. Τυπική απόκλιση	37
5.4.3. Γεωμετρικός μέσος όρος	38
5.4.4. Σταθερό σφάλμα	38
6. ΔΙΑΧΩΡΙΣΜΟΣ ΦΑΓΟΚΥΤΤΑΡΩΝ ΑΠΟ ΛΕΜΦΟΚΥΤΤΑΡΑ	39
6.1. Προσκόλληση σε γυάλινες επιφάνειες	39
6.2. Προσκόλληση μακροφάγων και άλλων φαγοκυττάρων σε επιφάνειες πλαστικού	40
6.3. Φαγοκυττάρωση σιδηρόσκονης	41
6.4. Σύνθεση θρεπτικού υλικού	42
7. ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ ΣΤΗΝ ΑΝΟΣΟΒΙΟΛΟΓΙΑ	44
7.1. Αντιγόνα	44
7.1.1. Διαλυτά πρωτεϊνικά αντιγόνα	44
7.1.2. Παρασκευή γ-σφαιρίνης ποντικού (προσδιορισμός κατά Faar)	44
7.1.3. Υπολογισμός της ποσότητας της πρωτεΐνης (γ-σφαιρίνης) .	46
7.2. Ερυθροκύτταρα	47
Διαλυμα Alsevers	47
7.3. Μικροβιακά αντιγόνα	47
Μέθοδος μέτρησης βακτηρίων	48
7.3.1. Οπτική μέθοδος	48
7.4. Ανοσοενισχυτικά	49
Ανοσοενισχυτικό του Freund	49
7.4.1. Παρασκευή υλικού για ανοσοποίηση με ανοσοενισχυτικό .	50
8. ΑΝΟΣΟΠΟΙΗΣΕΙΣ	51
8.1. Ανοσοποίηση με ανοσοενισχυτικό	51
8.2. Ανοσοποίηση χωρίς ανοσοενισχυτικό	51
Αντιερυθροκυτταρικός ορός	52
Αντιπρωτεϊνικός ορός	52
8.2.1. Ενδοφλέβια χορήγηση	52
8.2.2. Υποδόρια χορήγηση	53
8.2.3. Ενδοπεριτοναϊκή χορήγηση	53
8.3. Αφαίμαξη από φλέβα του αυτιού	53
8.4. Αφαίμαξη από καρδιά	54
8.5. Ινδικά χοιρίδια	55
8.6. Ποντικοί και αρουραίοι	56
8.7. Συλλογή ορού από το αίμα	57
9. ΠΟΝΤΙΚΟΙ ΚΑΙ ΑΡΟΥΡΑΙΟΙ - ΦΥΛΕΣ	59
9.1. Αιμομικτικές	59
9.2. F ₁ Υβρίδια	59

9.3.	Συγγενετικές φυλές	59
9.4.	Τυχαίες Φυλές	60
9.5.	Ζώα χωρίς ορισμένα παθογόνα και γνωτοβιοτικά ζώα	60
9.6.	Χιμαιρικά ζώα	60
10.	ΑΝΤΙΔΡΑΣΗ ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΩΝ ΜΕ ΑΝΤΙΓΟΝΑ	62
10.1.	Ποσοτική δοκιμασία καθίζησης	62
10.1.1.	Δοκιμασία διαφασικής ζώνης	62
10.1.2.	Μέτρηση ιζήματος αντισωμάτων-αντιγόνου	63
10.2.	Θεωρητική βάση των υπολογισμών – Περιεχόμενο του ορού σε αντισώματα	67
11.	ΑΝΟΣΟΔΙΑΧΥΣΗ	68
11.1.	Δοκιμασία σχηματισμού ιζήματος σε πίκτωμα	68
11.1.1.	Προκάλυψη τριβλίων με πίκτωμα άγαρ	68
11.2.	Μόνη αντινωτή ανοσοδιάχυση – Mancini	69
11.2.1.	Μέτρηση της ζώνης ιζήματος	71
11.2.2.	Άμεση μέτρηση	71
11.2.3.	Προετοιμασία για τη χρώση	71
11.2.4.	Καμπύλη αναφοράς	72
11.3.	Διπλή ανοσοδιάχυση σε δύο διαστάσεις – Ouchterlony ...	72
	Μέθοδος Α	73
	Μέθοδος Β	74
11.3.1.	Επεξήγηση των αποτελεσμάτων	75
11.3.2.	Σχετική συγκέντρωση αντιορού	76
11.3.3.	Υπολογισμός μοριακού βάρους και συντελεστού διάχυσης	76
12.	ΑΝΟΣΟΗΛΕΚΤΡΟΦΟΡΗΣΗ	78
12.1.	Ρουκετοειδής ανοσοηλεκτροφόρηση	78
13.	ΔΕΥΤΕΡΟΓΕΝΕΙΣ ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΕΙΣ – ΣΥΓΚΟΛΛΗΣΗ	81
13.1.	Άμεση αιμοσυγκόλληση	82
13.1.1.	Αξιολόγηση των αποτελεσμάτων	84
13.2.	Πειραματικό πρωτόκολλο ανοσοποίησης	86
13.2.1.	Υπερανοσοποίηση κουνελιού	86
13.3.	Παθητική ή έμμεση συγκόλληση ερυθροκυττάρων ή πλαστικών σφαιριδίων που έχουν καλυφτεί με αντιγόνο	87
14.	ΣΥΜΠΛΗΡΩΜΑ	88
14.1.	Αιμολυτικό συμπλήρωμα	88
14.1.1.	Ρυθμιστικό διάλυμα βαρβιτουρούχου φυσιολογικού ορού ..	89
14.1.2.	Παρασκευή ευαισθητοποιημένων SRBC	90
14.2.	Προσδιορισμός του συμπληρώματος – Υπολογισμός του CH ₅₀	91
14.2.1.	Α. Σε σωληνάκια	91

14.2.1.	Β. Σε δισκία καλλιέργειών σχήματος V	92
14.3.	Προσδιορισμός του συμπληρώματος με διάχυση σε άγαρ	92
14.4.	Ανίχνευση αντισωμάτων ή αντιγόνων με τη σύνδεση του συμπληρώματος	94
14.5.	Χημειόταξη	94
14.5.1.	Προετοιμασία τριβλίων με άγαρ	96
14.5.2.	Προετοιμασία χημειοτακτικού παράγοντα	97
15.	ΕΙΔΙΚΑ ΔΡΑΣΤΙΚΑ ΚΥΤΤΑΡΑ	98
15.1.	Μέτρηση κυττάρων που εκκρίνουν αντισώματα in vitro	98
15.2.	Ανοσοπλάκες: Κύτταρα που παράγουν αντισώματα ενάντια στα ερυθροκύτταρα προβάτου (αντι-SRBC)	99
15.2.1.	Μακρομέθοδος	99
	Ρυθμιστικό διάλυμα αλάτων (BSS)	100
15.2.2.	Μικρομέθοδος	102
15.3.	Ένζυμο-συνδεδεμένη ανίχνευση των κυττάρων που παράγουν αντισώματα (ELISPOT-Immunospot)	103
16.	ΠΛΑΣΜΑΤΙΚΗ ΜΕΜΒΡΑΝΗ ΤΩΝ ΛΕΜΦΟΚΥΤΤΑΡΩΝ	104
16.1.	Λεμφοκύτταρα που συνδέουν αντιγόνο	104
16.1.1.	Ρόδακες με ερυθροκύτταρα προβάτου	105
16.1.2.	Υπολογισμός και αξιολόγηση των αποτελεσμάτων	107
17.	ΔΡΑΣΤΙΚΑ Τ-ΛΕΜΦΟΚΥΤΤΑΡΑ - ΑΠΟΚΡΙΣΕΙΣ ΚΥΤΤΑΡΙΚΗΣ ΑΝΟΣΙΑΣ	108
17.1.	Απόρριψη μοσχεύματος	108
17.2.	Μόσχευμα ενάντια στον ξενιστή	109
17.3.	Απόκριση σε μιτογόνα	110
17.3.1.	Προσδιορισμός απόκρισης λεμφοκυττάρων αίματος στο μιτογόνο ΡΗΑ	111
	Υγρό σπινθηρισμού	113
17.3.2.	Έκφραση των αποτελεσμάτων	113
17.3.3.	Μιτογονική απόκριση σπληνοκυττάρων στο μιτογόνο CON-A (Τεχνική μικροκαλλιέργειών)	114
	Διάλυμα ραδιενεργού θυμιδίνης	115
17.4.	Προσδιορισμός της βλαστογένεσης μορφολογικά	115
17.5.	Αντίδραση λεμφοκυττάρων σε μεικτή καλλιέργεια	116
17.6.	Κυτταρομεσολαβιτική κυτταροτοξικότητα	116
17.7.	Αργοπορημένη υπερευαισθησία	117
17.7.1.	Αναστολή της μετανάστευσης των μακροφάγων	118
18.	ΑΥΤΟΑΝΟΣΙΑ	121
18.1.	Συγκόλληση Latex για την ανίχνευση του ρευματοειδή παράγοντα	121

18.2.	Αυτοαντισώματα ενάντια στο θυρεοειδή	121
18.3.	Πειραματική αρθρίτιδα ή αρθρίτιδα από ανοσοεπισχυτικό του Freund	122
19.	ΦΛΕΓΜΟΝΗ - ΦΛΟΓΙΣΤΙΚΑ - ΑΝΤΙΦΛΕΓΜΟΝΩΔΕΙΣ ΟΥΣΙΕΣ	123
19.1.	Πρόκληση φλεγμονής - Αντιφλεγμονώδη	124
20.	ΛΕΜΦΟΚΙΝΕΣ ΚΑΙ ΚΥΤΤΟΚΙΝΕΣ	126
20.1.	Παραγωγή και προσδιορισμός της ιντερλευκίνης-2 (IL-2) .	126
20.1.1.	Παραγωγή IL-2	127
20.1.2.	Ανίχνευση και τιτλοποίηση της IL-2	128
20.1.3.	Προετοιμασία των βλαστοκυττάρων	128
20.1.4.	Τιτλοποίηση υπερκείμενου IL-2 (με ραδιενεργό υλικό)	129
20.1.5.	Υπολογισμός των μονάδων IL-2 που περιέχει το υπερκείμενο	129
20.1.6.	Τιτλοποίηση IL-2 (χρωματική μέθοδος)	131
20.2.	Παράγοντας ογκοκένρωσης (TNF)	132
20.2.1.	Τιτλοποίηση του TNF	132
20.2.2.	Προετοιμασία των L-929	133
20.3.	Ενζυμοσυνδεδεόμενοι ανοσοπροσροφητικοί προσδιορισμοί (Elisa)	134
	Βιβλιογραφία	135