

**С.В. Сибиряк, С.В. Хайдуков  
А.В. Зурочка, В.А. Черешнев**

**ОЦЕНКА АПОПТОЗА  
В ИММУНОЛОГИЧЕСКИХ  
ИССЛЕДОВАНИЯХ**

РОССИЙСКАЯ АКАДЕМИЯ НАУК • УРАЛЬСКОЕ ОТДЕЛЕНИЕ  
ИНСТИТУТ ИММУНОЛОГИИ И ФИЗИОЛОГИИ

*С.В. Сибиряк, С.В. Хайдуков,  
А.В. Зурочка, В.А. Черешнев*

# ОЦЕНКА АПОПТОЗА В ИММУНОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЯХ

ЕКАТЕРИНБУРГ • 2008

УДК 576.3:612.112.94.013

Сибиряк С.В., Хайдуков С.В., Зурочка А.В., Черешнев В.А. **Оценка апоптоза в иммунологических исследованиях**: Краткое методическое руководство. Екатеринбург: УрО РАН, 2008. ISBN 5–7691–1930–6.

Представлены краткие сведения о механизмах программированной клеточной смерти – апоптозе, его роли в иммунорегуляции. Описаны методы проточной цитофлуорометрии, используемые в иммунологических исследованиях для «документации» апоптоза. Приведены протоколы окрашивания, обсуждены достоинства и недостатки методов. Предложен алгоритм исследования апоптотической реактивности лимфоцитов в теоретических и прикладных изысканиях.

Данное руководство предназначено для молодых исследователей-иммунологов, решивших изучать проблемы апоптоза, врачей клиничко-иммунологических лабораторий, преподавателей и студентов высших учебных заведений медицинского и биологического профиля.

Ил. 13, табл. 5.

Рецензент

доктор медицинских наук профессор **Б.Г. Юшков**

ISBN 5–7691–1930–6

С  $\frac{25(08)-22}{8П6(03)1998}$  ПВ-2008

© ИИФ УрО РАН, 2008 г.

## ОГЛАВЛЕНИЕ

---

ТЕОРЕТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ .....	4
Механизмы апоптоза .....	4
Апоптоз и иммунорегуляция .....	8
МЕТОДЫ ОЦЕНКИ АПОПТОЗА ЛИМФОЦИТОВ .....	15
Методы, позволяющие выявить морфологические изменения, свойственные апоптотирующей клетке .....	17
Оценка параметров светорассеяния клеток .....	17
Методы, основанные на выявлении структурно-биохимических изменений вне ядерного аппарата клетки .....	18
Окрашивание конъюгатом аннексина-V с флуорохромом и йодистым пропидием .....	18
Одновременное окрашивание поверхностных антигенов и идентификация апоптоза с помощью смеси FITC-аннексин-V .....	24
Определение трансмембранного потенциала митохондрий ( $\Delta\Psi_m$ ) с помощью митохондриальных «флуоресцентных зондов» .....	25
Определение активности каспаз .....	28
Методы, основанные на выявлении изменений ДНК апоптотирующих лимфоцитов .....	30
TUNEL-метод .....	31
Идентификация апоптоза с помощью окрашивания ДНК-флуорохромами .....	34
Идентификация апоптоза путем метахроматического окрашивания акридином оранжевым .....	40
ХАРАКТЕРИСТИКА РЕГУЛЯТОРНЫХ МЕХАНИЗМОВ АПОПТОЗА .....	44
ХАРАКТЕРИСТИКА АПОПТОТИЧЕСКОЙ РЕАКТИВНОСТИ ЛИМФОЦИТОВ В КЛИНИКО-ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ИССЛЕДОВАНИЯХ .....	47
ЗАКЛЮЧЕНИЕ .....	55
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ И РЕКОМЕНДУЕМОЙ ЛИТЕРАТУРЫ .....	57

---