

OBSAH

1	Úvod, základy imunochemických reakcí	
1.1	Struktura a funkce imunoglobulinů	7
1.2	Polyklonální protilátky	9
1.3	Monoklonální protilátky	10
1.4	Srovnání vlastností monoklonálních a polyklonálních protilátek	10
2	Metodika imunochemických reakcí	
2.1	Fixace materiálu, vazebná a koagulační fixativa	13
2.2	Imunohistochemické a imunofluorescenční metody	17
2.2.1	Základy přímých a nepřímých imunohistochemických metod detekce antigenů	17
2.2.2	Blokování nespecifických a neimunitních vazeb	24
2.2.3	Demaskování epitopů, proteolytická digesce, mikrovlnná trouba	27
2.2.4	Předpisy a postupy při imunohistochemickém vyšetření	29
2.3	Imunoblotting	34
2.4	ELISA test	38
2.4.1	Antibody captured assay	40
2.4.2	Antigen captured assay	43
2.4.3	Two-antibody captured assay	44
2.5	Průtoková cytometrie: principy a hlavní oblasti použití	45
2.5.1	Příprava buněčné suspenze	47
2.5.2	Princip průtokové cytometrie	48
2.5.3	Standardy a seřizování přístrojů	49
2.5.4	Měření obsahu DNA v buňkách	50
2.5.5	Třídění buněk pomocí fluoroforem značených protilátek	51
2.5.6	Analýza onkoproteinů a antigenů spojených s proliferací	52
2.6	Polymerázová řetězová reakce - PCR	52
2.7	Hybridizace in situ (ISH)	61
2.7.1	Značení a detekce nukleových kyselin	62
2.7.2	Volba vhodné označovací metody při hybridizaci	63
2.7.3	Postup při hybridizaci in situ	64
2.7.4	Posthybridizační vypírání	65
2.7.5	Imunocytochemie	65
2.7.6	Polymerázová řetězová reakce s následnou ISH	66
2.8	Lektiny	68
3	Imunohistochemie v biologii a v biotické diagnostice	
3.1	Cytoskelet, střední filamenta a základní druhy tkání	71
3.2	Markery epitelálních tkání	73
3.2.1	Cytokeratiny	73
3.2.2	Epiteliální membránový antigen (EMA)	81
3.2.3	Onkofetální antigeny	82
3.2.4	Antigeny asociované s karcinomy	82
3.2.5	Antigeny bazálních membrán epitelů	83
3.3	Markery pojivové tkáně	83
3.3.1	Vimentin	83
3.3.2	S 100 protein	85
3.3.3	Detekce CD antigenů	85
3.3.4	Histiocytární markery, histiocytózy	94
3.3.5	Endoteliální markery, antigeny krevních skupin	95
3.4	Markery svalové tkáně	95
3.4.1	Desmin	96

3.4.2	Aktin	96
3.4.3	Myozin	98
3.4.4	Myoglobin	99
3.4.5	Dystrofin a proteiny vázané k sarkolemmě	99
3.5	Markery nervové tkáně, S 100 protein a melanogenní antigeny	102
3.5.1	Neurofilamenta	102
3.5.2	Neuron-specifická enoláza (NSE)	103
3.5.3	Beta tubulin	103
3.5.4	Synaptofyzin	103
3.5.5	Chromogranin/sekretogranin	104
3.5.6	Leu 7	104
3.5.7	Gliální fibrilární kyselý protein, GFAP	104
3.5.8	S 100 protein	105
3.5.9	Melanogenní antigeny	105
3.6	Placenta, mola hydatidosa a chorionepiteliom	106
3.7	Endokrinní orgány	107
3.7.1	Štítná žláza	107
3.7.2	Hypofýza	108
3.7.3	Nadledvina	108
3.8	Ukazatelé rychlosti buněčné proliferace	109
3.8.1	Mitotická aktivita	109
3.8.2	Počítání AgNOR	110
3.8.3	Ki-67	111
3.8.4	PCNA	111
3.8.5	Významná stanovení rychlosti proliferace buněčné populace	112
3.9	Estrogenové a progesteronové receptory	113
3.10	Onkogeny, antionkogeny	114
3.10.1	Onkogeny	114
3.10.2	Antinkogeny	118
	Seznam použitých zkratk	126
	SUMMARY	12
	LITERATURA	129