

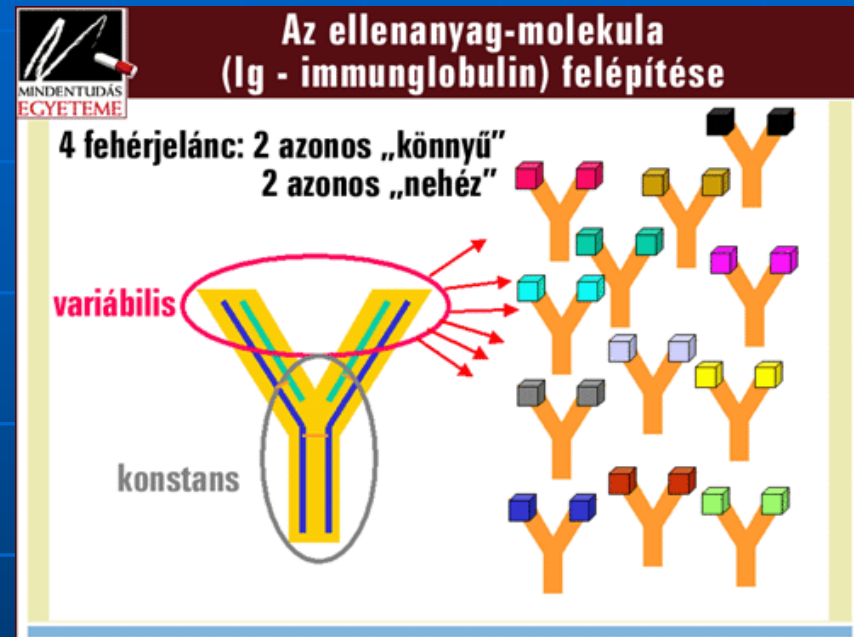
Géntechnikák

Immunoassays

Készítette: Mészáros Ágnes

Immunoassay

- Biokémiai tesztek melyekben az antigén – antitest kölcsönhatásait használják fel
- Antigén: kis szerves molekula, nagy szerves makromolekula (pl. fehérje), mikroorganizmus
- Antitestek: fehérjék, molekulatömegük 100.000 fölött van, Y alakúak



Immunoassayek csoportosítása

- Kompetitív: ha az egyik reagens (Ab vagy Ag) jelzett és jelzetlen formája túlsúlyban van a másik reagenshez képest, és ezért a jelzett és jelzetlen molekulák versenyeznek
- Nem kompetitív: szendvics módszer
- Heterogén módszerről beszélünk, ha szükség van jelzett anyagok elválasztására; ellenkező esetben a módszer homogén

Nem kompetitív immunoassay

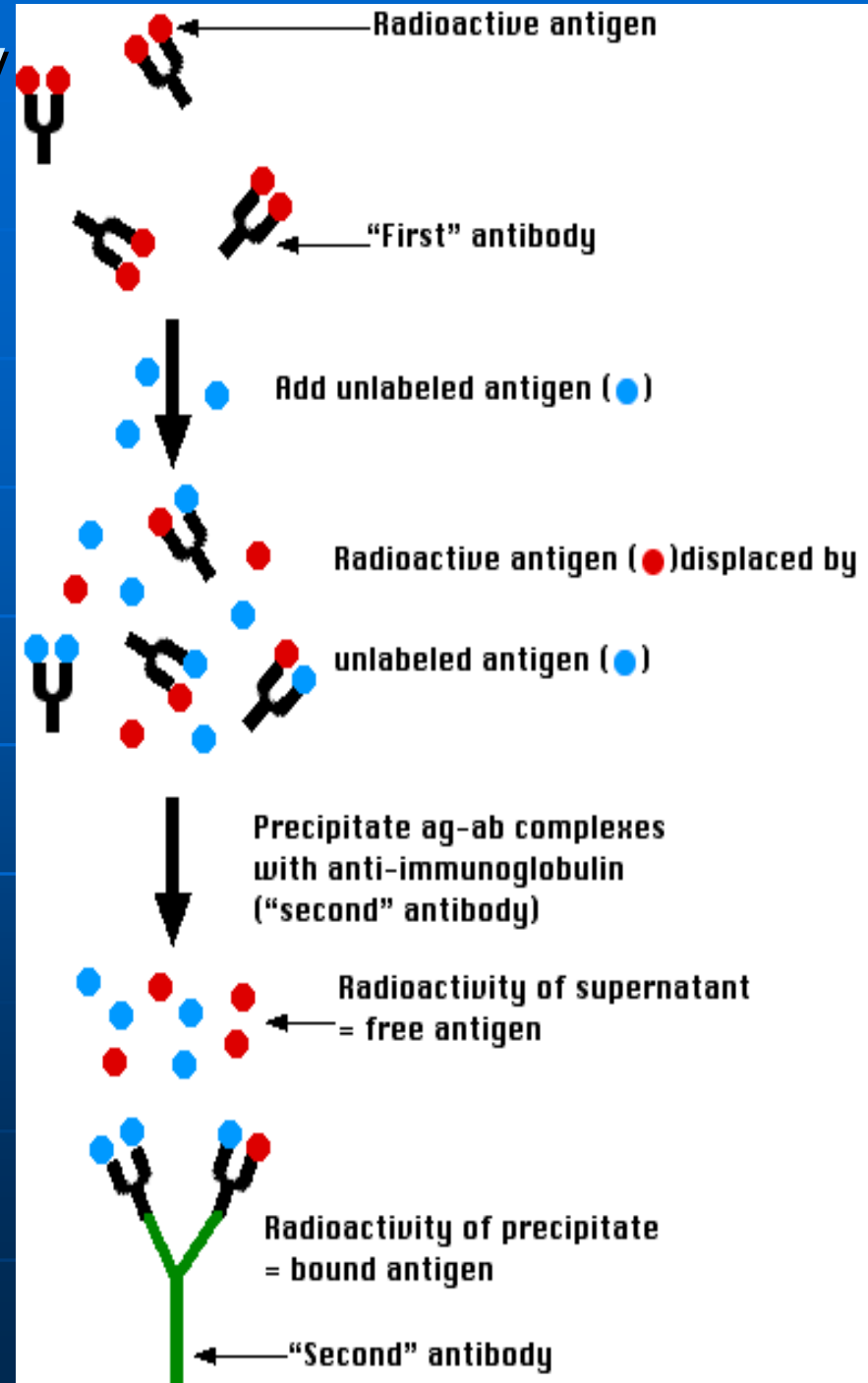
- két olyan antitest kell, amely a mérendő makromolekula különböző, egymástól elég távoli részletéhez köt
- az első antitestet egy műanyag kémcső falához kötjük kovalensen/ adszorpcióval (a variábilis régió maradjon szabad)
- a mintát a kiszárított kémcsőbe töltjük (csak annyi antigén, hogy az edény falán lévő antitest ne telítődjön), majd inkubáljuk
- a mintát kiöntjük és öblítés után a kémcsőbe töltjük a második, jelzéssel ellátott antitestet feleslegben
- az antigén a kémcső falán két különböző antitest között kötve helyezkedik el („szendvics”)
- a felesleges jelzett anyagot kiöntjük és öblítés után mérjük a kémcső falán lévő antigéneken kötött jelzett antitest mennyiségét (jelzés lehet radioaktív atom → RIA)

Mennyiségi mérés antitestekkel

- Az antigén-antitest reakció egyes esetekben csapadékképződéshez vezet (pl. vércsoport-reakció) → titrálásszerűen kell végezni, mert a csapadék oldhatósága megnő bármelyik reagens feleslege esetén
- csapadékképződési reakció sebességének mérése az oldat zavarosságának mérése révén (fényelnyelés - turbidimetria vagy fényszórás - nefelometria)
- Ha az antigén makromolekula, az antitesttel való összekapcsolódás révén egy a kiindulási anyagoknál jóval nagyobb molekula jön létre → az antitestet a mérés előtt egy fényvezető réteg felületén rögzítik kovalensen, majd mérik a felületi réteg törésmutatóját a teljes visszaverődésnél a fényvezetőből kis távolságra kilépő fény révén (evaneszcens hullám) → A minta hozzáadása után az antigén megkötődik, a réteg törésmutatója megváltozik és ez jelváltozást okoz

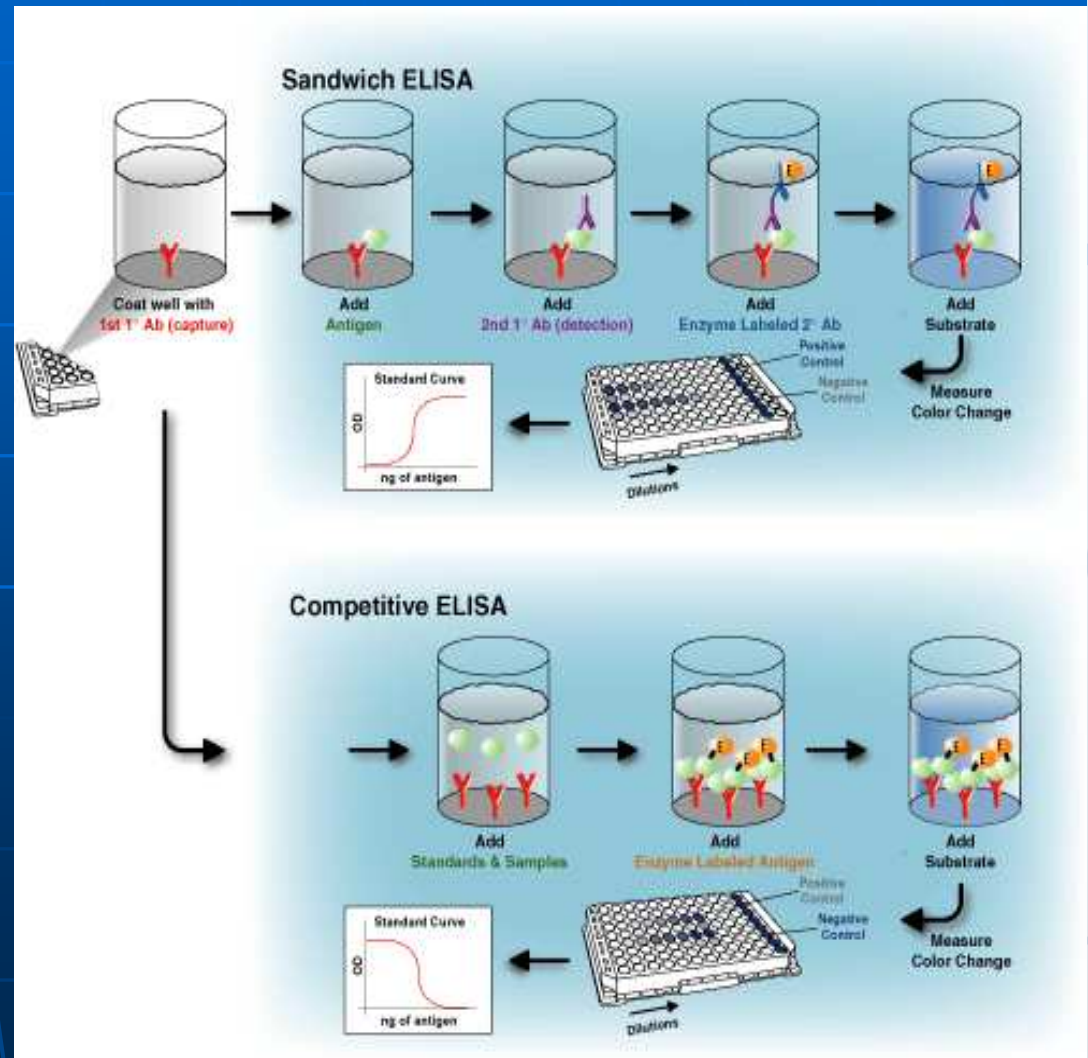
Radioimmunoassay (RIA)

- Általában I^{125} vagy I^{131} izotópot használnak jelzésre, ekkor pl. az antigén egy aromás gyűrűjébe visznek be radioaktív jódot.
- A mért jelintenzitást - radioaktív beütések száma percenként - ábrázolják a jelzetlen antigén koncentrációja - logaritmusának - függvényében



ELISA (Enzyme - Linked ImmunoSorbent Assay)

- Kompetitív/nem kompetitív
- két antitestre van szükség
- az egyik antitest specifikus az antigénre nézve, míg a másik antitest az antigén – antitest komplexhez kötődik, enzimmal jelölt
- antigén és antitest kimutatására is használható



Mérési módszerek

1. Radioimmunoassay (RIA)
2. Immunradiometrikus assay (IRMA)
3. Enzimimmunoassay módszerek (EIA, ELISA, EMIT)
4. Mikrorészecske-enzimimmunoassay (MEIA) pl.: Abbott IMX
5. Fluoreszcenciapolarizációs immunoassay (FPIA) pl. Abbott TDX
6. Abbott AXSYM
7. Fluoreszcencia enzimimmunoassay (FIA, DELFIA)
8. Gázkromatográfia
9. Nagynyomású folyadékkromatográfia (HPLC)
10. Fotometria, kémiai reakció után
11. Fluorimetria, kémiai reakció után
12. Affinitáskromatográfia immunoassay (ACMIA) pl.: Dade ACA
13. Radiális megoszlási immunoassay (RPIA) pl. Dade STRATUS
14. CEDIA (Clone enzyme directed immunoassay)
15. Lumineszcencia, kemilumineszcencia immunoassay (LIA, SPALT)
16. Elektrokémiai lumineszcencia immunoassay pl.:ELECSYS
17. Lumineszcencia erősített enzimimmunoassay (LEIA, LIEMA) pl.: IMMULITE
18. Többrétegû film (MF-FIA) pl.: OPUS
19. ELFA-technika (Enzyme Linked Fluorescence Assay), pl.: Biomeriëux VIDAS
20. Nefelometria, Turbidimetria
21. MTM (multilayer-tesztmodul), ETM (ELISA-tesztmodul) pl.: Behring OPUS

Köszönöm a figyelmet!