

Radioimunoanalýza (RIA)

Radioimunoanalýza (RIA) neboli **radioimunologická stanovení** zahrnují takové metody radioizotopové mikroanalýzy, jejichž základem je imunochemická reakce antigenu se specifickou protilátkou (Ab), prováděná in vitro v přítomnosti vhodné radioaktivně značené sloučeniny jako radioindikátoru, který umožňuje kvantifikaci stanovení na základě určení distribuce aktivity.^[1]

Historie

Metoda, pomocí které byla poprvé změřena hladina inzulínu v krvi in vitro, byla vyvinuta v 50. letech 20. století v USA. Jednalo se vůbec o první kvantitativní stanovení hladiny hormonu v krvi. Za tento objev obdržela Rosalyn Sussman Yalow v roce 1977 Nobelovu cenu za medicínu. Tím, že bylo možné přesně změřit hladinu inzulínu v krvi, se léčba diabetu mellitus posunula o výrazný kus dopředu.

Princip metody

Jedná se o kompetitivní imunoreakci, tzn. značený antigen soupeří o vazebná místa na protilátce, která se v reakční směsi nachází v omezeném množství, s nezačteným antigenem. Stanovovaná látka je v tomto případě nezačtený antigen, další antigen je značen např. radioaktivním izotopem iodu (^{125}I , ^{131}I) pro proteinové antigeny, či tritiem nebo ^{14}C pro nízkomolekulární látky. Výsledkem reakce je vznik dvou komplexů: značený antigen-protilátka ($\text{Ag}^*\text{-Ab}$) a nezačtený antigen-protilátka (Ag-Ab). Množství značeného komplexu ($\text{Ag}^*\text{-Ab}$) je nepřímo úměrné množství stanovovaného antigenu, čili čím více stanovované látky se ve vzorku nachází, tím menší množství značeného komplexu vznikne a tím menší bude výsledný signál. Toto si lze jednoduše vysvětlit tím, že značené antigeny se nenavážou na protilátku pro nedostatek vazebných míst, která obsadí nezačtený antigen. Z uvedených poznatků také vyplývá, že se v reakční směsi nacházejí i volné formy Ag a Ag^* . Celková reaktivita (T) se tak rozdělí do dvou frakcí – vázané (B) a volné (F), přičemž platí: $T = B + F$.

Postup metody

Pro kvantitativní stanovení určité látky ve vyšetřovaném vzorku je třeba vytvořit kalibrační křivku, která odráží závislost výsledného signálu na známé koncentraci dané látky. Kalibrační křivku připravujeme z tzv. standardů. Nedílnou součástí stanovení jsou i kontroly, kde předem známe velikost radioaktivity.

Solid-phase RIA (ve zkumavkách)

1. Do zkumavek potažených specifickou protilátkou napipetujeme jednotlivé standardy a neznámé vzorky. Kontroly napipetujeme do nepotahovaných zkumavek.
2. Do každé zkumavky přidáme ve stejném množství radioindikátor (Ag^*).
3. Promícháme a necháme inkubovat.
4. Po dostatečně dlouhé době odsajeme reakční směs.
5. Měříme vázanou (B) a volnou (F) radioaktivitu na gamačítači.

Pozn.: Separaci imunokomplexu lze provést i jinými způsoby, např. pomocí elektroforézy, ionexové chromatografie atd.

Příklady využití RIA v praxi ^[2]

- endokrinologie (hladiny hormonů) v krvi
- digitoxin nebo digoxin u pacientů, kteří berou tyto léky
- toxikologie: průkaz přítomnosti drog
- krevní transfuze: přítomnost povrchového antigenu hepatitidy B (HBsAg) v darované krvi
- imunologie: anti-DNA protilátky u systémového lupus erythematosus (SLE).

Výhody a nevýhody RIA

Hlavními výhodami této metody jsou vysoká citlivost a možnost automatizace. Nevýhodou je nutnost separačního mezistupně, dále nákladné zařízení nutné pro provádění této metody a v neposlední řadě rizika spojená s manipulací s radioaktivní látkou.

Odkazy

Související články

- ELISA

Externí odkazy

- Wikipedia (<https://www.wikipedia.org/>)
- http://biochemie.upol.cz/doc/skripta/imch/9_Radioimunoanaliza.pdf
- http://imunologie.lf2.cuni.cz/soubory_vyuka/imunoreakce.pdf

Reference

1. *Radioimunoanalýza (RIA)* [online]. [cit. 2013-05-18].
<<http://orion.sci.muni.cz/virtuallab/dokumenty/pdf/Radioimunoanaliza.pdf>>. ,
2. *Imunoreakce se značenými protilátkami* [online]. [cit. 2013-05-18].
<http://imunologie.lf2.cuni.cz/soubory_vyuka/imunoreakce.pdf>. ,