

ELISA

ELISA (angl. zkratka *enzyme-linked immuno sorbent assay*), známá také jako **EIA** (angl. zkratka *enzyme immunoassay*), je analytická metoda využívaná ke kvantitativnímu stanovení různých antigenů. Tato metoda má řadu variant. Všechny jsou založeny na vysoce specifické interakci antigenu a protilátky, přičemž na jednoho z těchto partnerů je **kovalentně navázán enzym** (nejčastěji peroxidáza nebo alkalická fosfatáza). Enzym katalyzuje chemickou přeměnu **substrátu**, který je přidán do reakční směsi, na produkt, který je barevný. Stanovuje se pak spektrofotometricky (viz chromogenní substrát), nebo na základě fluorescence (fluorimetrické stanovení). Koncentrace produktu je **úměrná** koncentraci antigenu nebo protilátky ve vzorku. Dalším společným znakem metod ELISA je **zakotvení** (adsorpce nebo kovalentní navázání) antigenu nebo protilátky **na nerozpustný nosič** (často povrch reakční nádoby nebo mikrotitrační destičky), což usnadňuje separaci imunochemicky navázaných molekul.



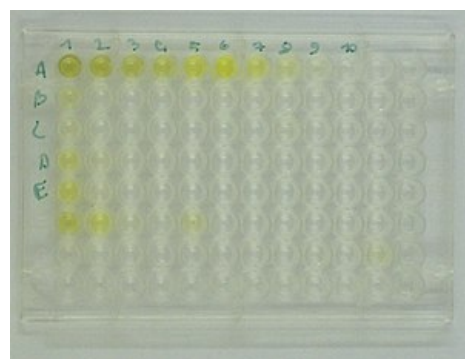
Vybavení k ELISA

Postup

A: Standardní **sendvičová ELISA** na zjištění koncentrace **antigenu**:

1. navázání protilátky na dno zkušavky;
2. přidání vzorku a inkubace – dochází ke vzniku vazby **antigen-protilátka**;
3. odmytí nenavázaného antigenu;
4. přidání druhé protilátky, vázající stejný antigen, na které je kovalentně připojen **enzym**;
5. inkubace a odmytí nadbytečné protilátky s enzymem;
6. přidání substrátu a průběh **enzymem katalyzované reakce**;
7. zastavení reakce a měření.

Jako **sendvičová** se nazývá proto, že antigen je jako sendvič mezi dvěma protilátkami.



Odečítání ELISA

B: Obdobně lze reakci provést na detekci **protilátek** ve vzorku. To probíhá obdobně, jen je v 1. kroku navázán na zkušavku antigen a druhá protilátka je proti hledané protilátce. Tato metoda se označuje jako **capture ELISA**.

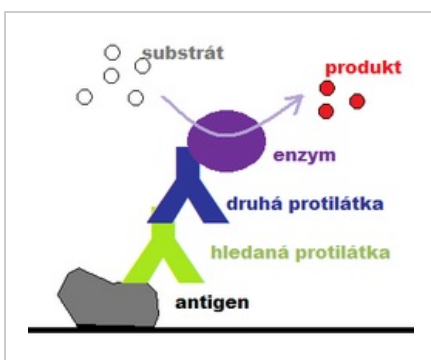
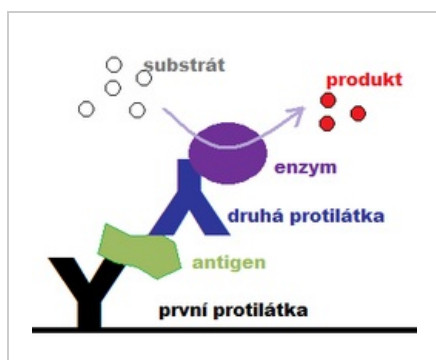


Schéma *sendvičové ELISA* metody.

Schéma *capture ELISA* metody.

Odkazy

Suvisející články

- Laboratorní vyšetření v dermatovenerologii
- Imunofluorescenční vyšetření v dermatologii
- RIA

Literatura

- SCHNEIDERKA, Petr, et al. *Kapitoly z klinické biochemie*. 2. vydání. Praha : Karolinum, 2004. ISBN 80-246-0678-X.

