

# Uživatelka:Nik0l45/Pískoviště

## Radioimunoanalýza (RIA)

### Historie

Metoda, pomocí které byla poprvé změřena hladina insulinu 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 insulinu v krvi, se léčba diabetu mellites posunula o výrazný kus dopředu.

Soubor:Yalow.jpg

### Popis metody

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.<sup>[1]</sup>

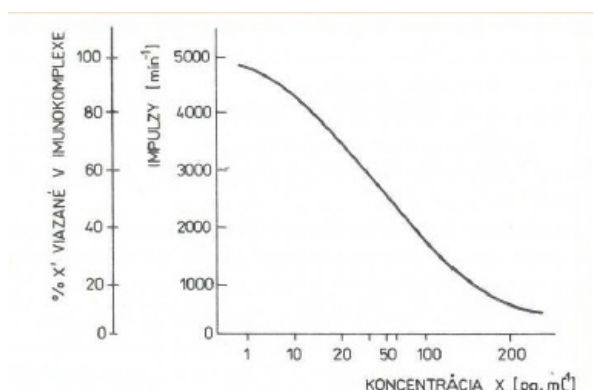
### Princip metody

Jedná se o kompetitivní imunoreakci, tzn. značený antigen soupeří o vazebná místa na protilátce, která se v reakční směsi nachází v omezeném množství, s neznačeným antigenem. Stanovovaná látka je v tomto případě neznačený antigen další antigen je značen např. radioaktivním izotopem iodu ( $^{125}\text{I}$ ,  $^{131}\text{I}$ ) pro proteinové antigeny, či tritiem nebo  $^{14}\text{C}$  pro nízkomolekulární látky. Výsledkem reakce je vznik dvou komplexů: značený antigen - protilátka ( $\text{Ag}^*\text{-Ab}$ ) a neznačený antigen - protilátka ( $\text{Ag-Ab}$ ). 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 nenaváží na protilátku pro nedostatek vazebných míst, která obsadí neznačený antigen. Z uvedených poznatků také vyplývá, že se v reakční směsi nacházejí i volné formy Ag a  $\text{Ag}^*$ . Celková reaktivita (T) se tak rozdělí do dvou frakcí - vázané (B) a volné (F), přičemž platí:  $T = B + F$ .

Soubor:Kompetitivni.jpg

### 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 zkuševkách):

1. Do zkuševky potažených specifickou protilátkou napipetujeme jednotlivé standardy a neznámé vzorky. Kontroly napipetujeme do nepotahovaných zkuševky.
2. Do každé zkuševky přidáme ve stejném množství radioindikátor ( $\text{Ag}^*$ ).
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.

### 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 (<https://www.wikiskripta.eu/w/ELISA>)

### Externí odkazy

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

### Reference

1. [ *Nekompletní citace webu.* . *Radioimunoanalýza (RIA)* [online]. [cit. 2013-05-18]. <<http://orion.sci.muni.cz/virtuallab/dokumenty/pdf/Radioimunoanaliza.pdf>>. ],