

# Immunszerológia II.

2010. / 7

**Immunológiai és Biotechnológiai Intézet**

**PTE KK**

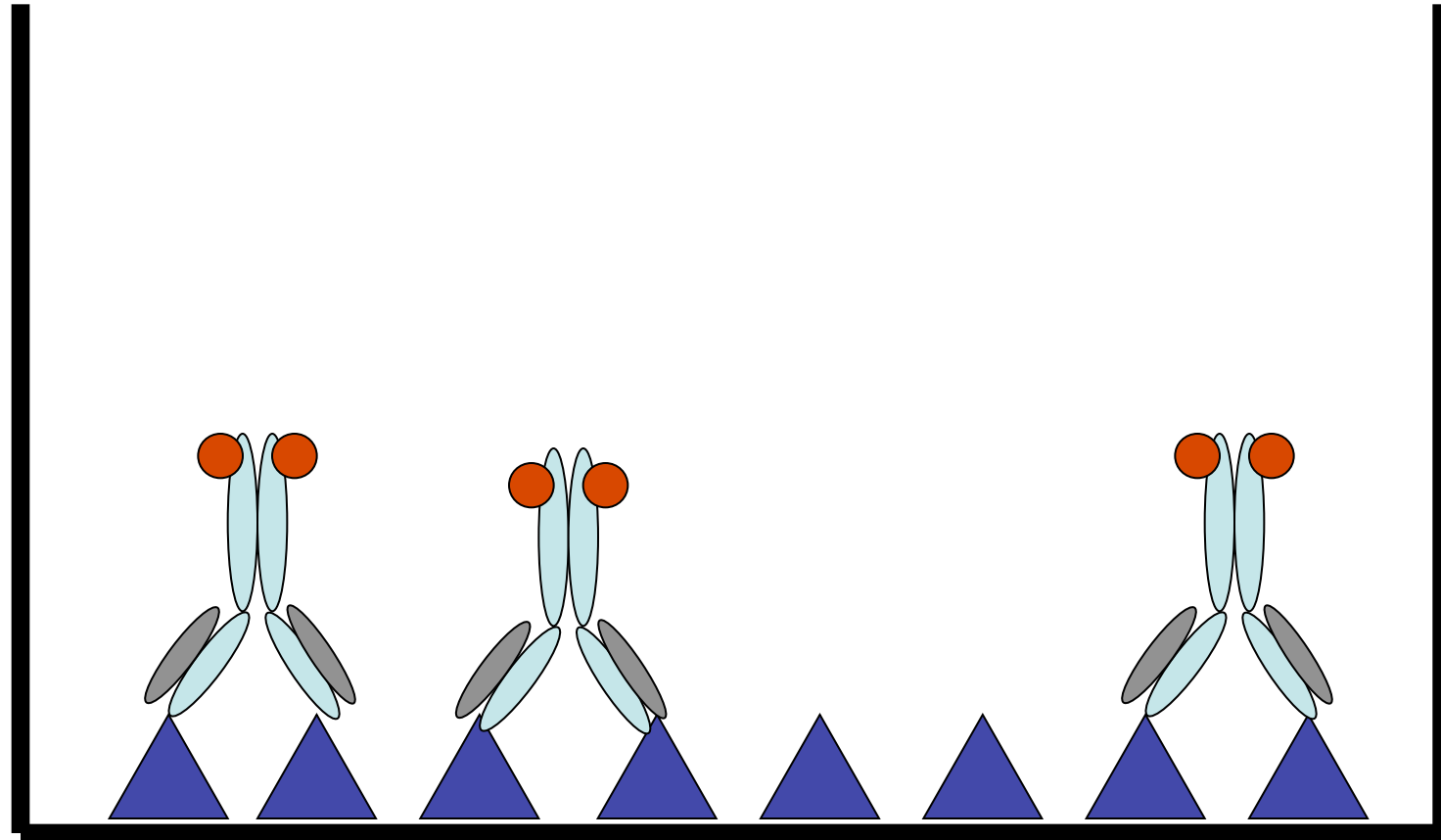
# ELISA 1. - Alapok

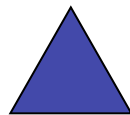
- **Enzyme**
- **Linked**
- **Immuno**
- **Sorbent**
- **Assay**

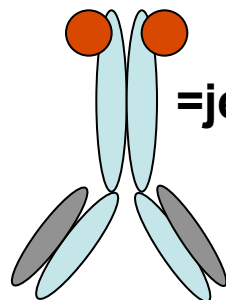
# ELISA 2. - Alapok

1. **Két résztvevő: antigén – antitest**
3. **Az egyik résztvevőt szilárd fázishoz kötjük - érzékenyítés (műanyag felületek nem specifikusan fehérjéket kötnek), míg a másik komponens oldott állapotban van.**
5. **Az oldatból specifikus antitest – antigén kapcsolódás révén a szilárd felszínhez kötődnek a keresett molekulák.**
6. **A szilárd felszínre kötött immunkomplexeket egy vagy több lépésben tesszük láthatóvá direkt, indirekt vagy streptavidin/ biotin jelöléssel.**
7. **A felszínhez nem kötődött komponenseket mosással távolítjuk el a rendszerből.**
8. **Fontos a antigén-antitest reakció lezajlása előtt a nem specifikus kötőhelyeket telíteni! (zselatin, BSA, tejpor)**

# ELISA 3. – „egyszerű, direkt”

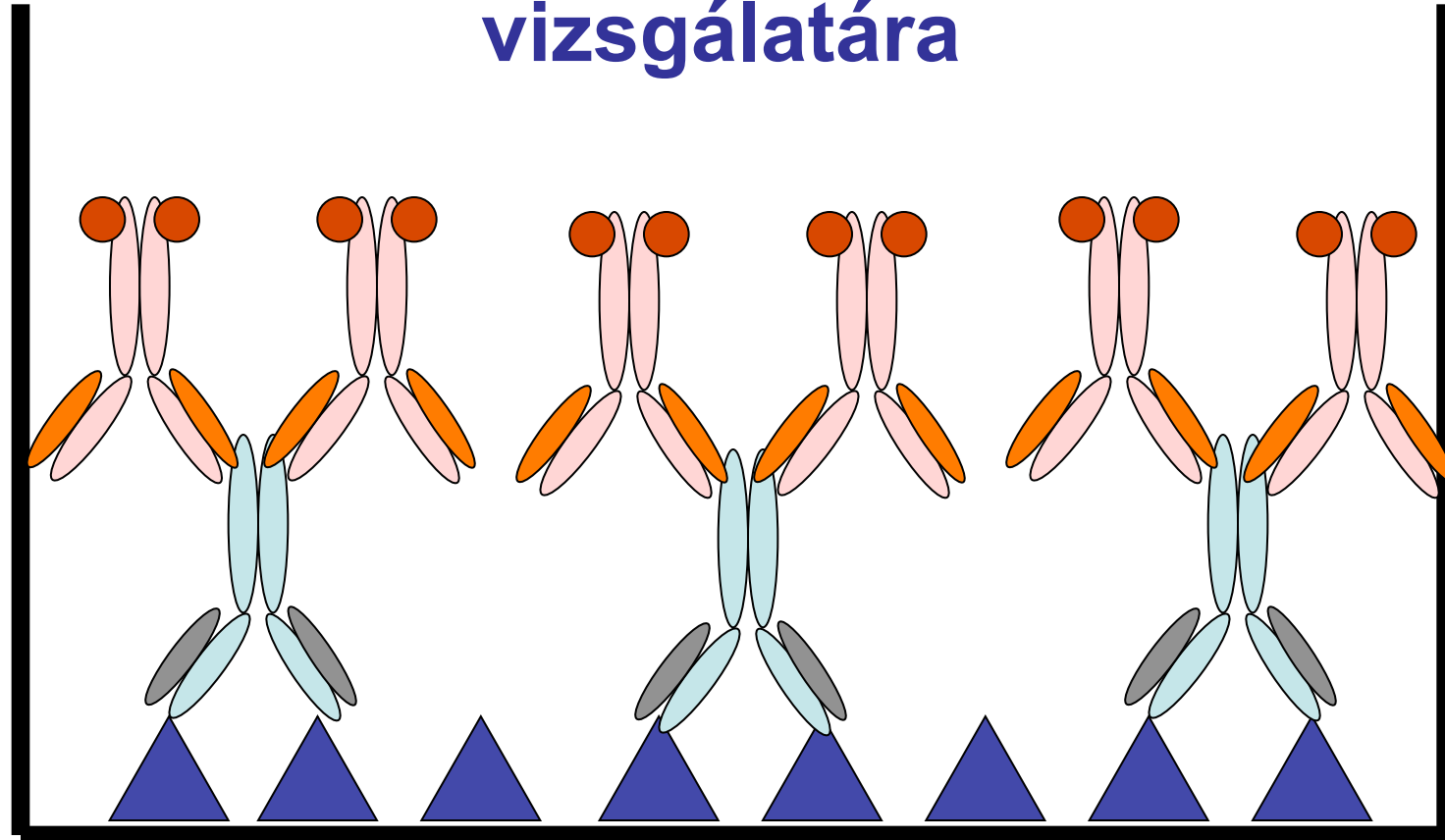


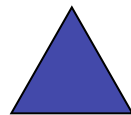
 =antigén

 =jelölt antitest

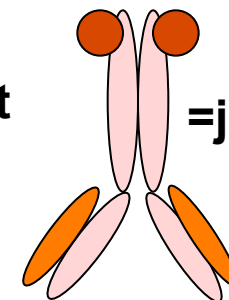


# ELISA 4. – „egyszerű, indirekt”, pl. hybridómák antitest termelésének vizsgálatára

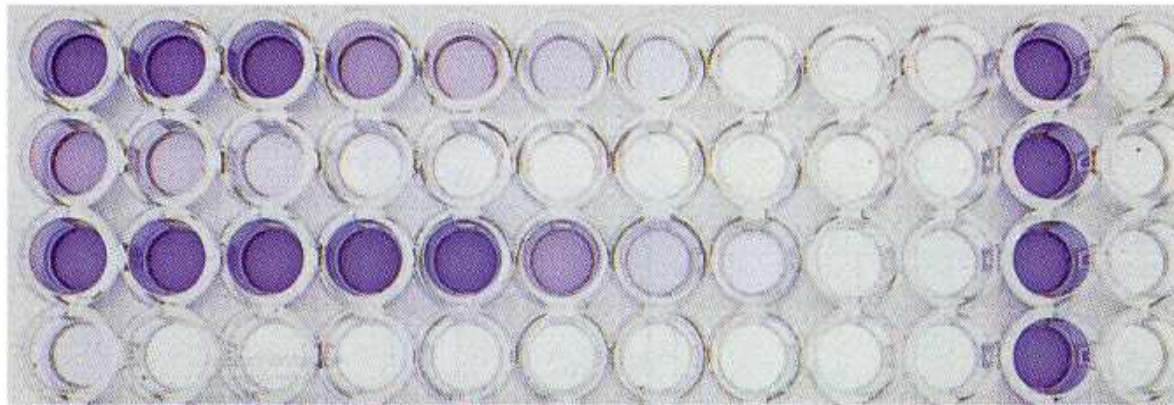
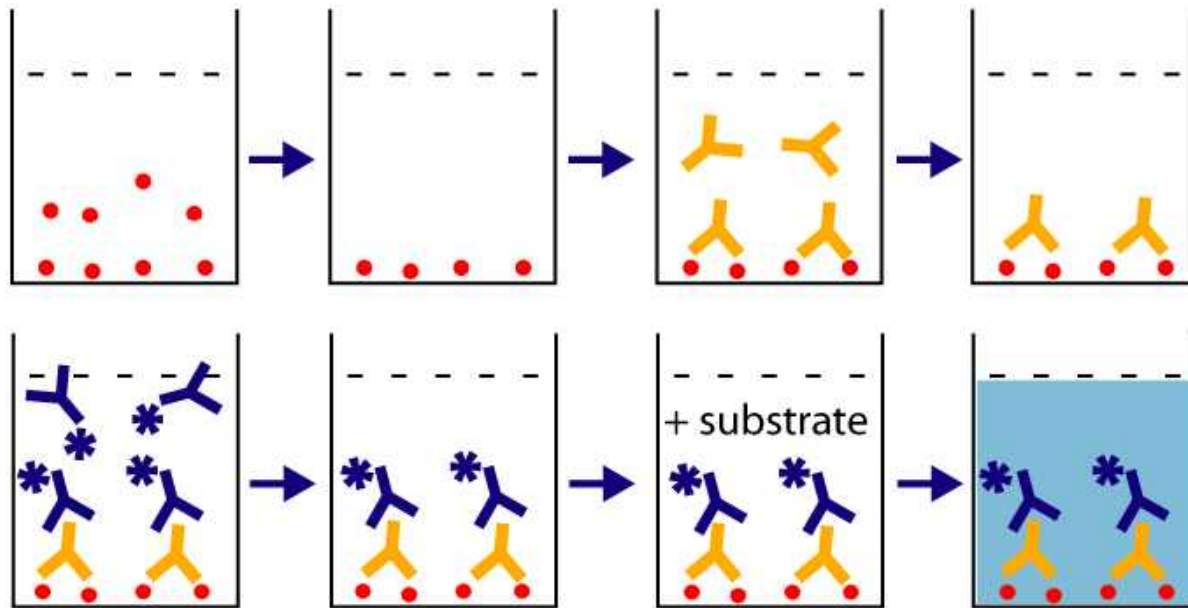


 =antigén

 =jelöletlen 1. antitest

 =jelölt 2. antitest

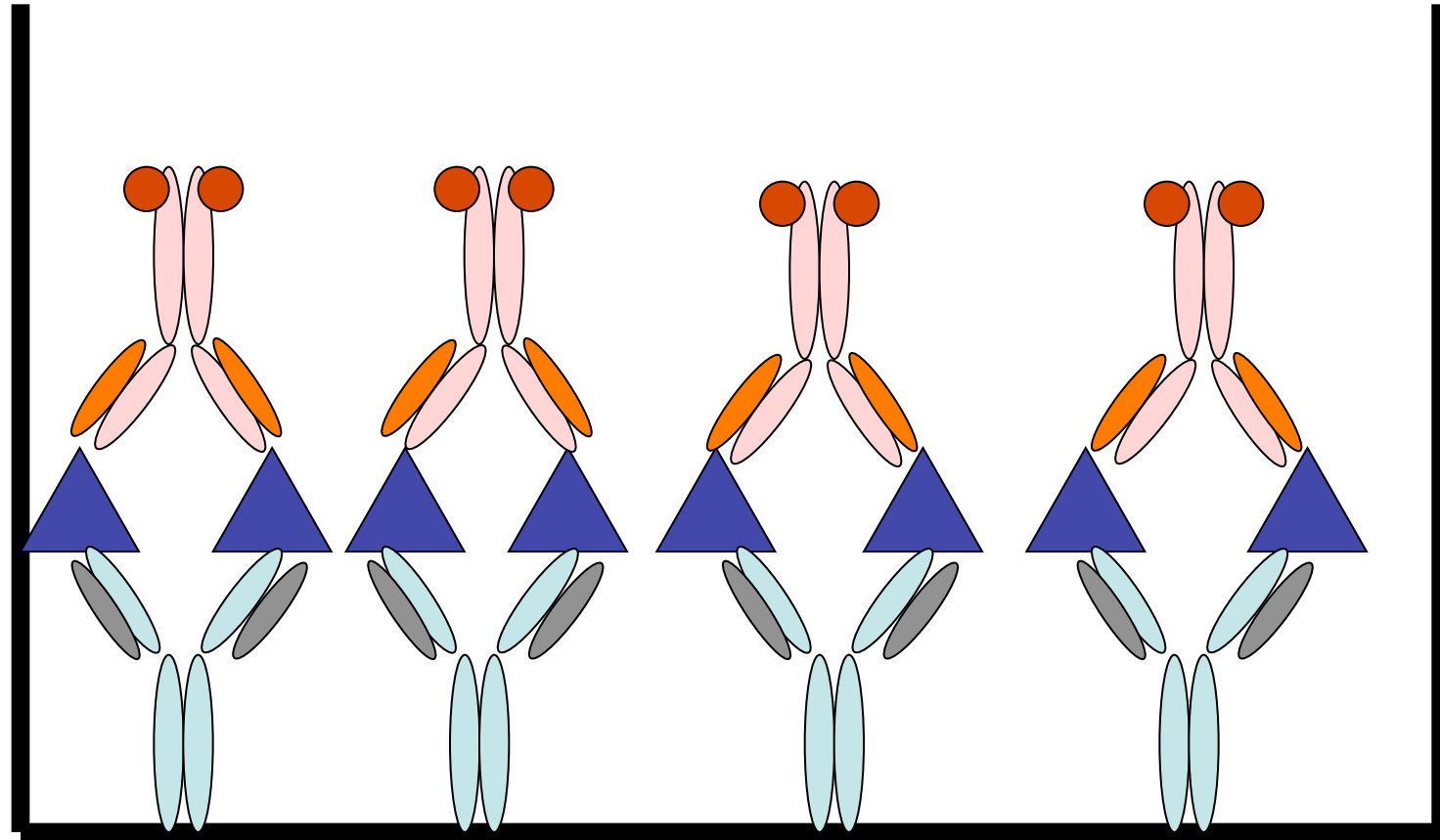
# ELISA 5. – „egyszerű, indirekt”



# ELISA 6. – „sandwich”

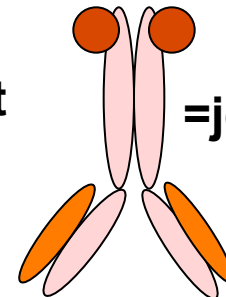
- **Többféle antigént tartalmazó oldatban alkalmas egy adott antigén kvantitatív kimutatására (pl. szérumban vagy más biológiai mintákban, egyes igen alacsony koncentrációban jelen lévő fehérjék – hormonok, citokinek - meghatározására)**
- **Feltétele: két monoklonális antitest amelyek ugyanazon antigén eltérő epitópjait ismerik fel.**

# ELISA 7. – „sandwich”

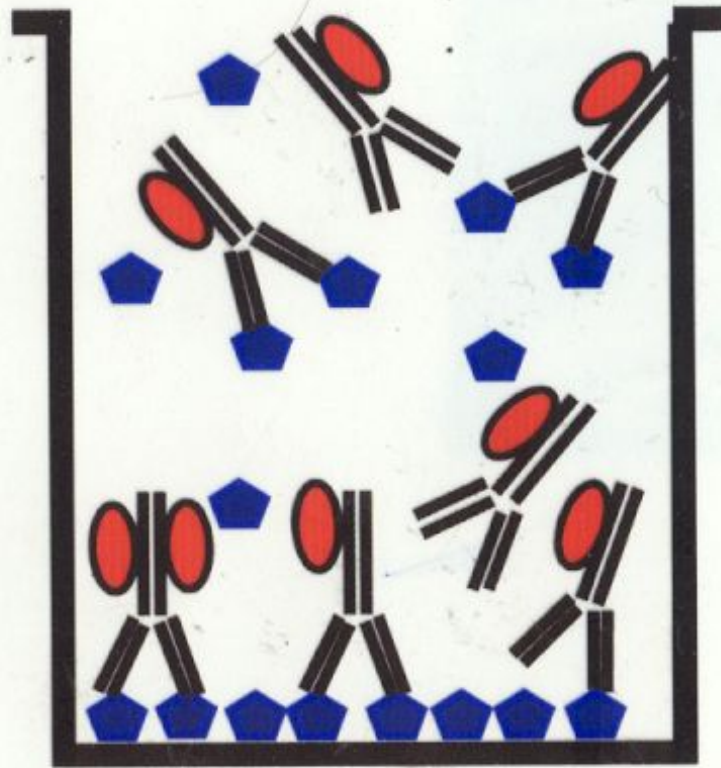


 =antigén

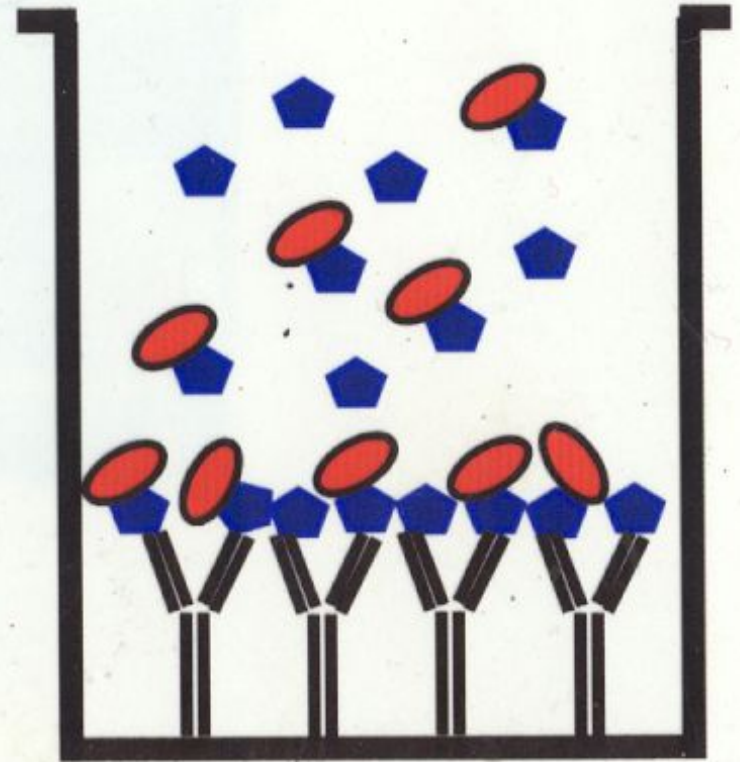
 =jelöletlen 1. antitest

 =jelölt 2. antitest

# ELISA 8. – „kompetíció”





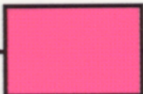

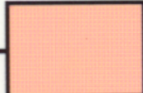


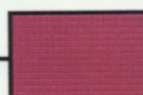


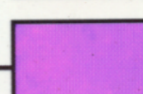
Competitive-type (a)



Competitive-type (b)



# Szubsztrát rendszerek

Enzyme Label	Substrate System	Color Reaction	End Product	Application
Alkalien Phosphatase	p-Nitrophenyl Phosphate (pNPP)		Soluble	ELISA
	5-Bromo-4-Chloro-3-Indolyl Phosphate/ Nitro Blue Tetrazolium (BICP/NBT)		Insoluble	Immunoblotting Immunohistology
	Fast Red/Naphtanol AS-TR Phosphate		Insoluble	Immunoblotting Immunohistology
Peroxidase	2,2'-Azino-bis (3-Ethylbenzthiazoline- 6-Sulfonic Acid) (ABTS)		Soluble	ELISA
	o-Phenylenediamine (OPD)		Soluble	ELISA
	3,3',5,5'-Tetramethylbenzidine (TMB)		Soluble	ELISA
	o-Dianisidine		Soluble	ELISA
	5-Aminosalicylic Acid (SAS)		Soluble	ELISA
	3,3'-Diaminobenzidine (DAB)		Insoluble	Immunoblotting Immunohistology
	3-Amino-9-Ethylcarbazole (AEC)		Insoluble	Immunoblotting Immunohistology
	4-Chloro-1-Naphthol (4C1N)		Insoluble	Immunoblotting Immunohistology

# Rutin ELISA lelet

**Qualitätskontroll-Zertifikat / Quality Control Certificate**

**Rheumatoid Factor Screen**

Art.-Nr. / Cat.-No. <b>ORG 5225</b>	Ch.-B. / Lot <b>522S81746</b>	Verw. bis / Expiry Date <b>2010-04-28</b>	Standardkurve / Calibration Curve Example: Curve fit: Vier-parameter (lin-log) / 4 parameter logistic fit
--	----------------------------------	--	---

	Prüfwert / Test Value	Sollbereich / Range
	A <sub>450/620</sub>	A <sub>450/620</sub>
Standard A	0,015	< 0,150
Standard E	2,086	> 1,300

Kontrollen / Control Sera: Lot K522845

	Sollbereich / Range
	U/ml
Control + 1	75 - 125
Control - 2	< 25



Rheumatoid Factor Screen

Eine Testpackung dieser Charge wurde geprüft und entspricht der Produktspezifikation.  
Die Charge ist freigegeben. A sample of this product lot has been tested and found to meet all product specifications. This lot is released.

2008-11-19  
Prüfdatum / Test Date

*Mansi*  
Barbara Mansi  
Qualitätskontrolleiter / Quality Control Manager

ORGENTEC Diagnostika GmbH | Postfach 100352 | D-55134 Mainz/Germany

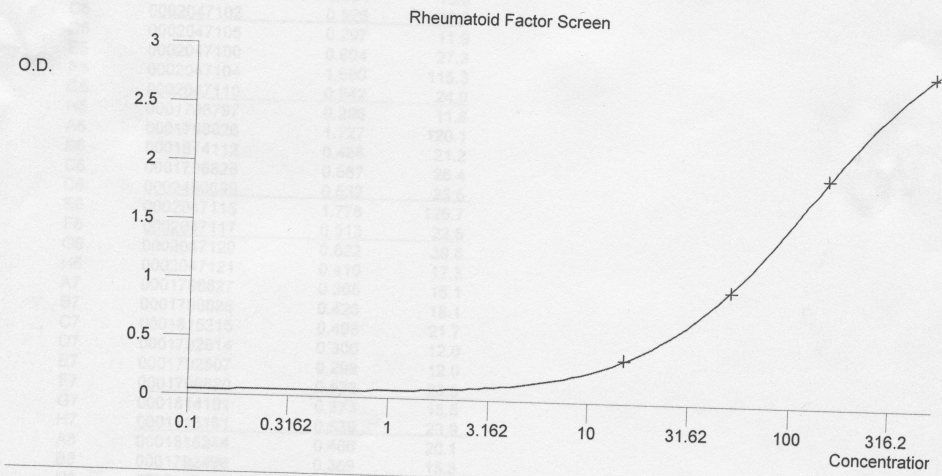
DFB7064 gültig ab: 19.04.2004 Ausgabe 1

ER limit: 3.000  
velengths: 450nm/620nm

Orgentec Stopplsg. 0012  
Probenpuffer ANA/ENA 0013  
Orgentec WP

**Quantitative Results**

4-Parameter data model  
A = 0.04734      B = 1.088      C = 121.4      D = 3.426



Well Location	Patient ID	O.D. Data	U/ml Data	Flag
B1	S1	0.044	*****	
C1	S2	0.367	15.2	
D1	S3	0.966	49.1	
E1	S4	1.939	151.4	
F1	S5	2.831	500.9	

Well Location	Patient ID	O.D. Data	U/ml Data	Flag
G1	PC1	1.590	103.4	

*Keller*