

免疫酶技术

刘昱宏 14340220005

一. 技术原理及特点

免疫酶技术是将抗原抗体反应的**特异性**与酶的**高效催化作用**有机结合的一种方法。它以酶作为标记物，与抗体或抗原联结，与相应的抗原或抗体作用后，通过底物的颜色反应作抗原抗体的定性和定量，亦可用于组织中抗原或抗体的定位，定性或定量研究，即酶免疫组织化学技术。

该技术有灵敏度高，特异性强，准确性好的特点，酶标记能够较长时间保持稳定，操作简便对环境无污染。并且易于其他技术联系衍生出适用范围更广的新方法。

抗原抗体反应的特异性

+

酶高效催化反应的专一性

- 主要试剂：
酶标记的抗体或抗原
- 酶标物特点：
免疫学活性
酶对底物的催化活性

二. 技术分类介绍

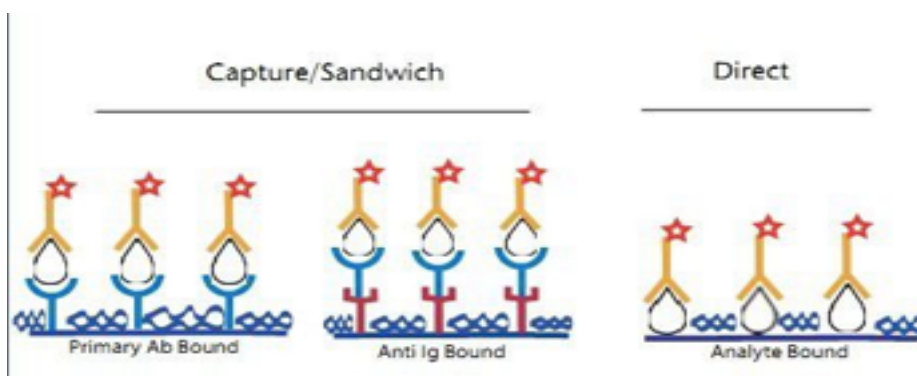
酶免疫技术分为酶免疫组化（组织切片或其它标本中的抗原定位）与酶免疫测定（液体标本中抗原或抗体的定性预定量），其中酶免疫测定分为均相酶免疫测定与非均相酶免疫测定。

1. 均相酶免疫测定：用于小分子激素和半抗原的测定。最具代表性的两种技术为酶放大免疫测定技术（EMIT）与克隆酶供体免疫分析（CEDIA）。

2. 非均相酶免疫测定：与均相不同之处在于需要分离有利于结合的酶标记。分为液相与固相酶免疫测定。以聚苯乙烯等作为固相载体的酶联免疫吸附试验（ELISA）是目前最为常用的固相酶免疫测定。

三. 酶联免疫吸附试验（ELISA）

作为酶免疫测定技术中应用最广的技术。其基本方法是将已知的抗原或抗体吸附在固相载体（聚苯乙烯微量反应板）表面，使酶标记的抗原抗体反应在固相表面进行，用洗涤法将液相中的游离成分洗除。常用的 ELISA 法有双抗体夹心法和间接法，前者用于检测大分子抗原，后者用于测定特异抗体。



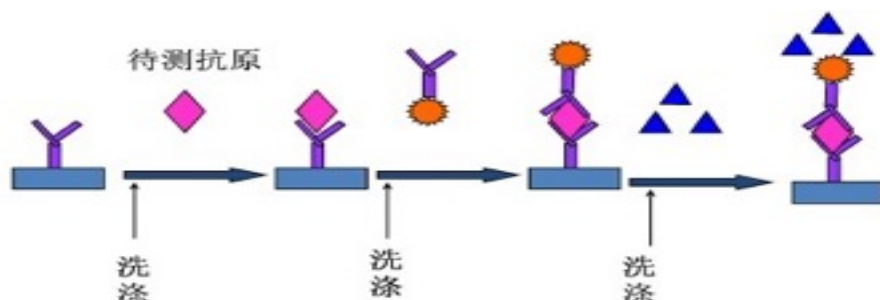
1. 双抗体夹心法：用一只抗体包被，加入待检血清，再加酶标记抗体，加底物显色。应用于二价或二价以上大分子抗原测定（甲胎蛋白等）。一般之操作步骤为：

将具有专一性之抗体固著（coating）于塑胶孔盘上，完成后洗去多余抗体

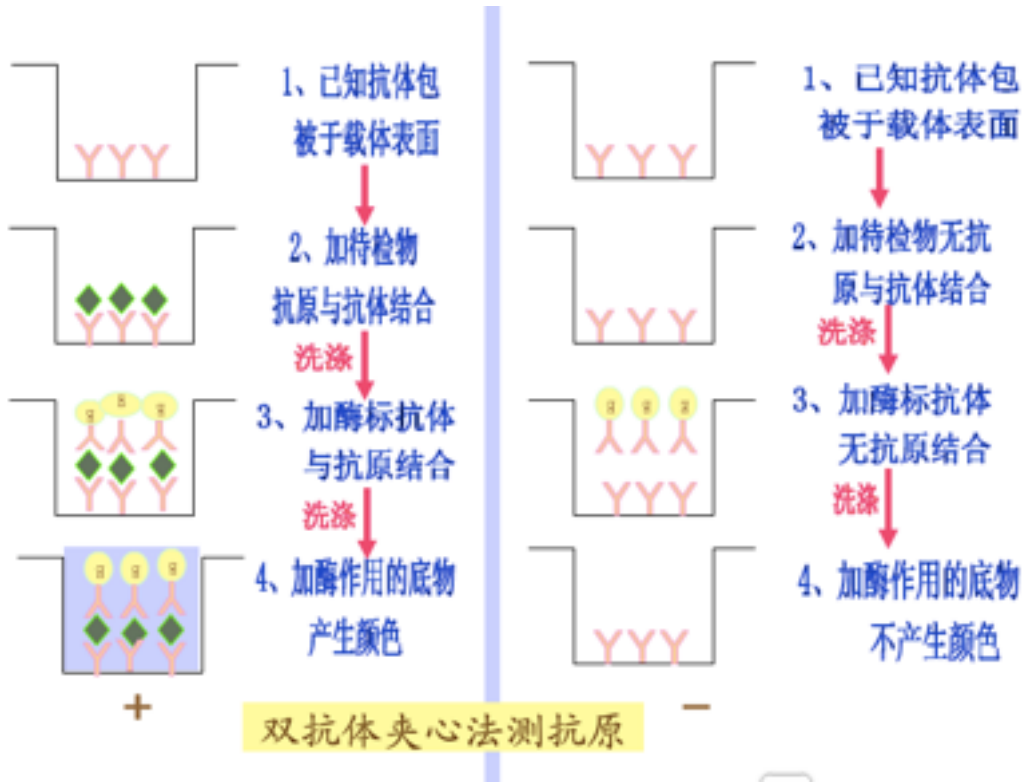
加入待测检体，检体中若含有待测之抗原，则其会与塑胶孔盘上的抗体进行专一性键结

洗去多余待测检体，加入另一种对抗原专一之一次抗体，与待测抗原进行键结

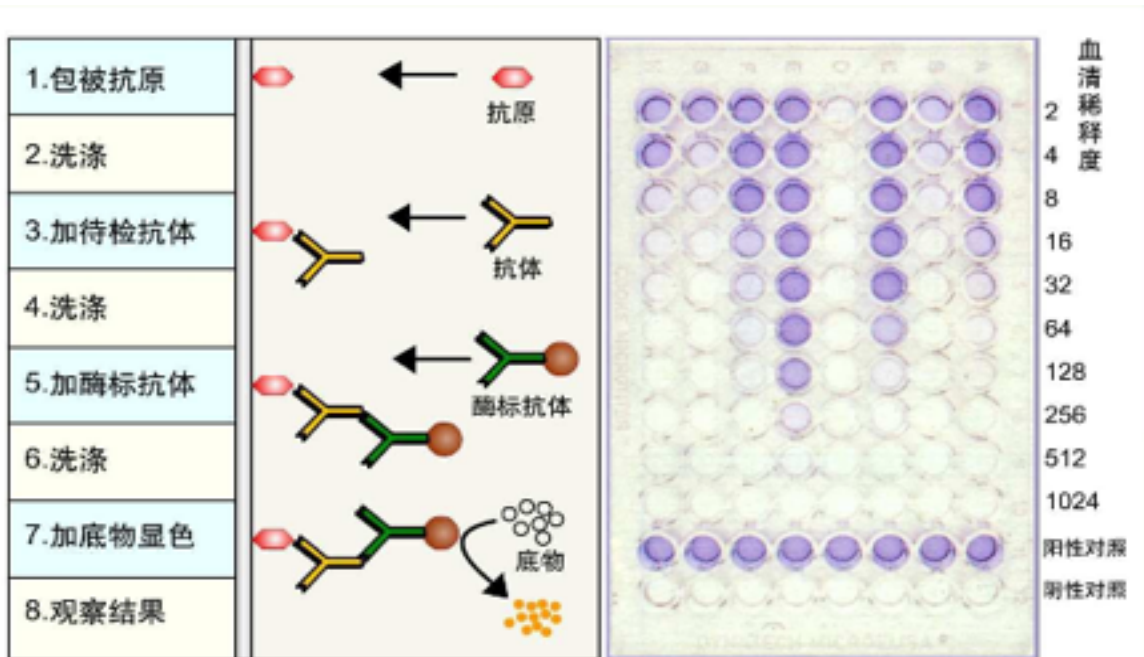
洗去多余未键结一次抗体，加入带有酵素之二次抗体，与一次抗体键结



洗去多余未键结二次抗体，加入酵素受质使酵素呈色，以肉眼或仪器读取呈色结果



2.间接法：用一只抗原包被，加入待测血清，再加入酶标记的抗体，加底物显色。常用于HIV抗体和梅毒螺旋体抗体等的测定。



酶联免疫吸附试验 (ELISA, 间接法)



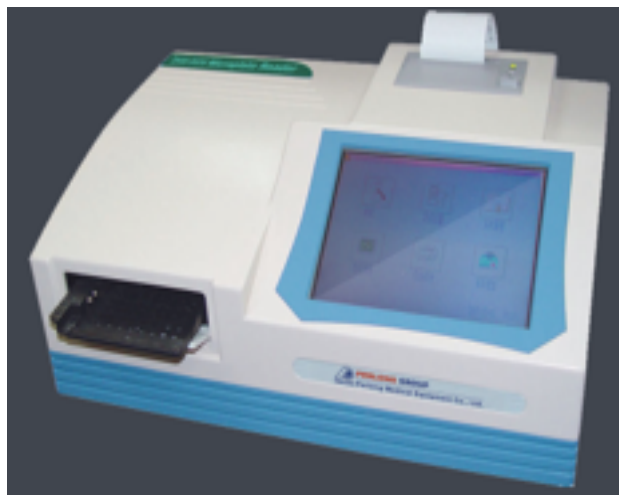
三.酶免疫测定的应用

均相酶免疫测定主要用于药物与小分子物质的检测。

非均相免疫测定中的ELISA应用更为广泛，ELISA广泛用于传染病的诊断，病毒图病毒性甲肝（甲肝抗体，“乙肝三对”，丙肝抗体，丁肝抗体，戊肝抗体），风疹病毒，疱疹病毒，轮状病毒顶：细菌如结核杆菌，幽门螺旋杆菌等。也用于一些蛋白质检测，如过重免一切蛋白，补体，肿瘤标志物（甲胎蛋白，癌胚抗原，前列腺特异型抗原等）。



ELISA试剂盒



酶标仪