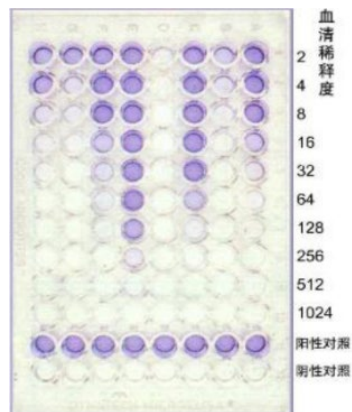
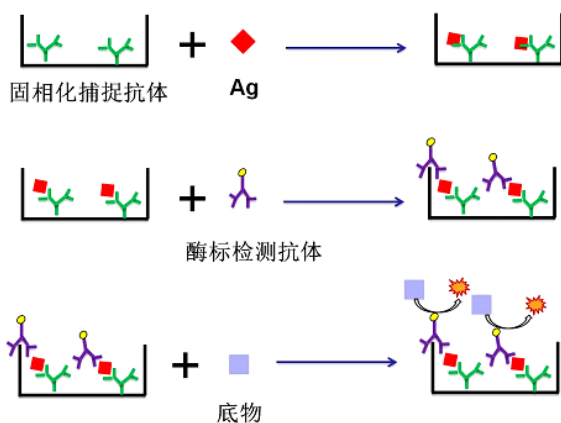


# ELISA 技术

——陈思远 20301050197

ELISA 技术 (*Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*), 即酶联免疫吸附测定技术, 是一种免疫学测定技术, 主要通过抗原抗体反应检测液体标本中的抗体或抗原性物质的成分与含量, 用于定性或定量分析。

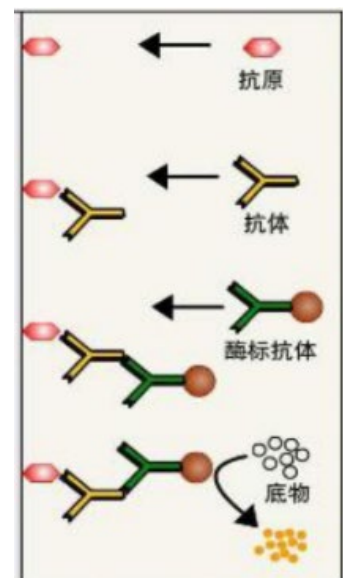
**技术原理:** 将已知的抗原或抗体结合于固相载体表面, 再将抗原或抗体与特定酶连接成酶标抗原或抗体, 同时保持酶的活性和抗原或抗体的免疫活性。在检测时, 将待检血清样品与酶标抗原或抗体加入反应板, 使待检血清样品与固相载体表面的抗原或抗体反应结合, 洗涤去除其他杂质, 则最后结合在固相载体表面上的酶量与待检验血清样品中的抗原或抗体量成一定的比例。加入底物, 其所含的供氢体可在酶的作用下被还原为有色的氧化型, 出现颜色反应。故可通过颜色的深浅判断待检血清样品中抗原或抗体的量。



ELISA 技术目前主要有以下四类, 其检测原理略有差异。

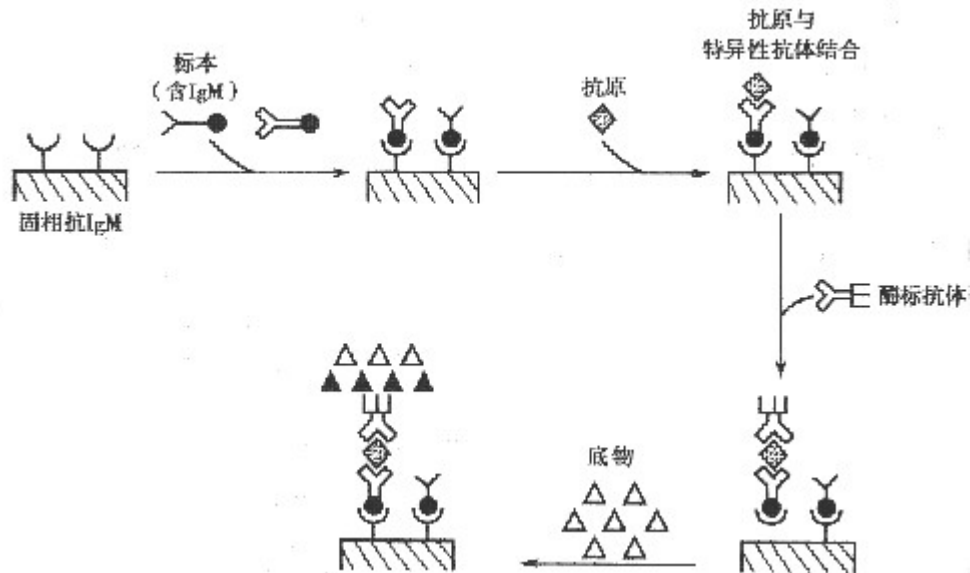
## 1. 间接法 (indirect ELISA)

将特异性抗原包被于固相载体表面, 形成固相抗原, 血清中待测的抗体可与之结合形成固相抗原抗体复合物, 再加入特异性的酶标抗体, 与固相抗原抗体复合物中的抗体结合, 洗涤去掉未反应的酶标抗体与其他杂质, 最后加入底物与酶结合显色, 颜色的深浅可以定性或定量地反样品中抗体的含量。



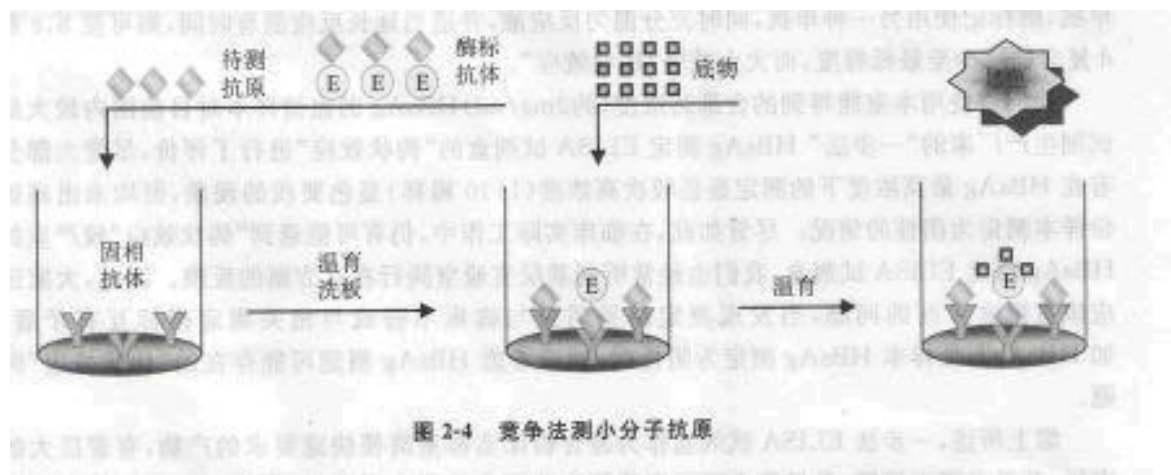
## 2. 双抗体夹心法 (sandwich ELISA)

被检测的抗原包被在两个抗体之间，其中一个特异性抗体将抗原固定于固相载体上，即捕捉抗体。另一个则是酶标抗体，与底物结合后显色来测定抗原的含量。



## 3. 竞争法 (competitive ELISA)

将确定量的酶标抗原与样品中的抗原一同竞争总数有限的特异性固相抗体，洗涤去除未结合的抗原，再通过与底物结合进行呈色，将其颜色与对照组（全为酶标抗原）进行对比，计算得出样品中抗原的含量。



**技术应用：**ELISA 技术作为一种能够快速测定样品中特定抗原或抗体的含量的免疫测定技术，已经广泛地应用于医疗以及其他各个领域，如疾病的临床诊断、疾病监察、疾病普查、法医检查、兽医及农业上的植物病害的诊断检定等。

## 1. 检测抗原与抗体

在内分泌方面：用于检测性激素、黄体素、胰岛素、促甲状腺素和孕酮等

在血液学方面：用于检查凝固因子、红细胞抗原及结合球蛋白等

在肿瘤方面：用于检查甲胎蛋白（AFP）癌胚抗原（CEA）

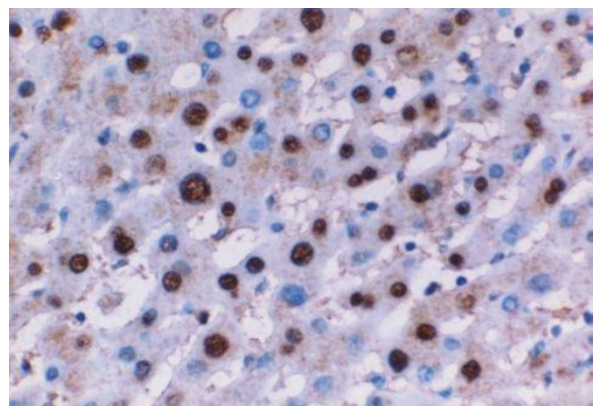
寄生虫病方面：用于对疟原虫、锥虫、血吸虫、囊虫、旋毛虫病等血清学诊断。

病原微生物方面：用于检查链球菌、结核杆菌、麻疯杆菌、霍乱弧菌等的抗体，还可用于破伤风抗毒素和霍乱弧菌抗毒素的测定以及检测斑疹伤寒立克次氏体感染后的抗体，可作诊断。



## 2. 免疫酶染色各种细胞内成分

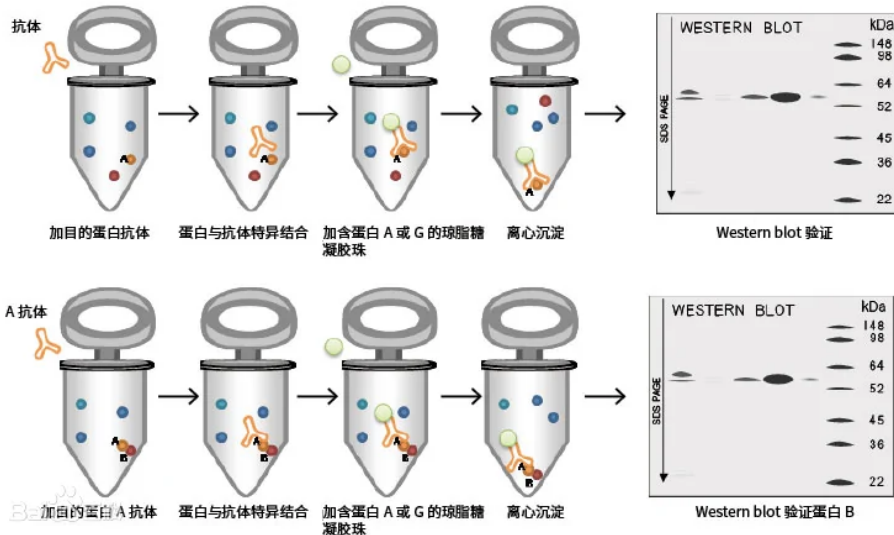
标记抗体与标本中抗原反应并形成抗原抗体复合物，用缓冲液洗去未结合的成分，再加入酶反应底物，显色后用显微镜观察结果。在组织细胞原位通过抗原抗体反应和组织化学的呈色反应，借助可见到标记物，在细胞、亚细胞水平对各种抗原或抗体物质进行定位、定性和定量测定，在临床病理学、免疫学、微生物学诊断中发挥了很大的作用。



### 3. 抗酶抗体的合成

抗酶抗体是酶和抗体的结合，不需要通过化学交联剂交联，抗体失活少，同时具有酶的活性，并且遇到相应的底物即催化显色，具有诸多优点。

### 4. 显示微量的免疫沉淀反应



**技术优缺点：**ELISA 技术，总体上来讲，具有特异性好、灵敏度高、重复性好、检测快速等特点，尤其适合于大批量血清样品的检测，在动物免疫，疫苗免疫效果评估等方面具有很大的实用价值。但其也具有一些显著的缺点，如重复性不好；受自身抗体、嗜异性抗体等干扰，易出现假阳性；不论仪器和手工操作，干扰因素较多，影响最大的是温度和时间等。

另外，不同种类的 ELISA 技术也各有优缺点

#### 1. 间接法 (indirect ELISA)

优势：二级酶标抗体能够加强信号，且有多种选择，可用于不同的测定剖析。而未用酶标的一级抗体则能保存较好的免疫反应特性。

缺陷：交互反应发生的机率较高。

#### 2. 双抗体夹心法 (sandwich ELISA)

优势：高活度、高专一性，抗原无须事前纯化。

缺陷：抗原需要具有两个以上的抗体结合部位。

#### 3. 竞争法 (competitive ELISA)

优势：可适用比拟不纯的样本，并且数据再现性很高。

缺陷：全体的敏感性和专一性都较差。