

Imunoblot

Imunoblot

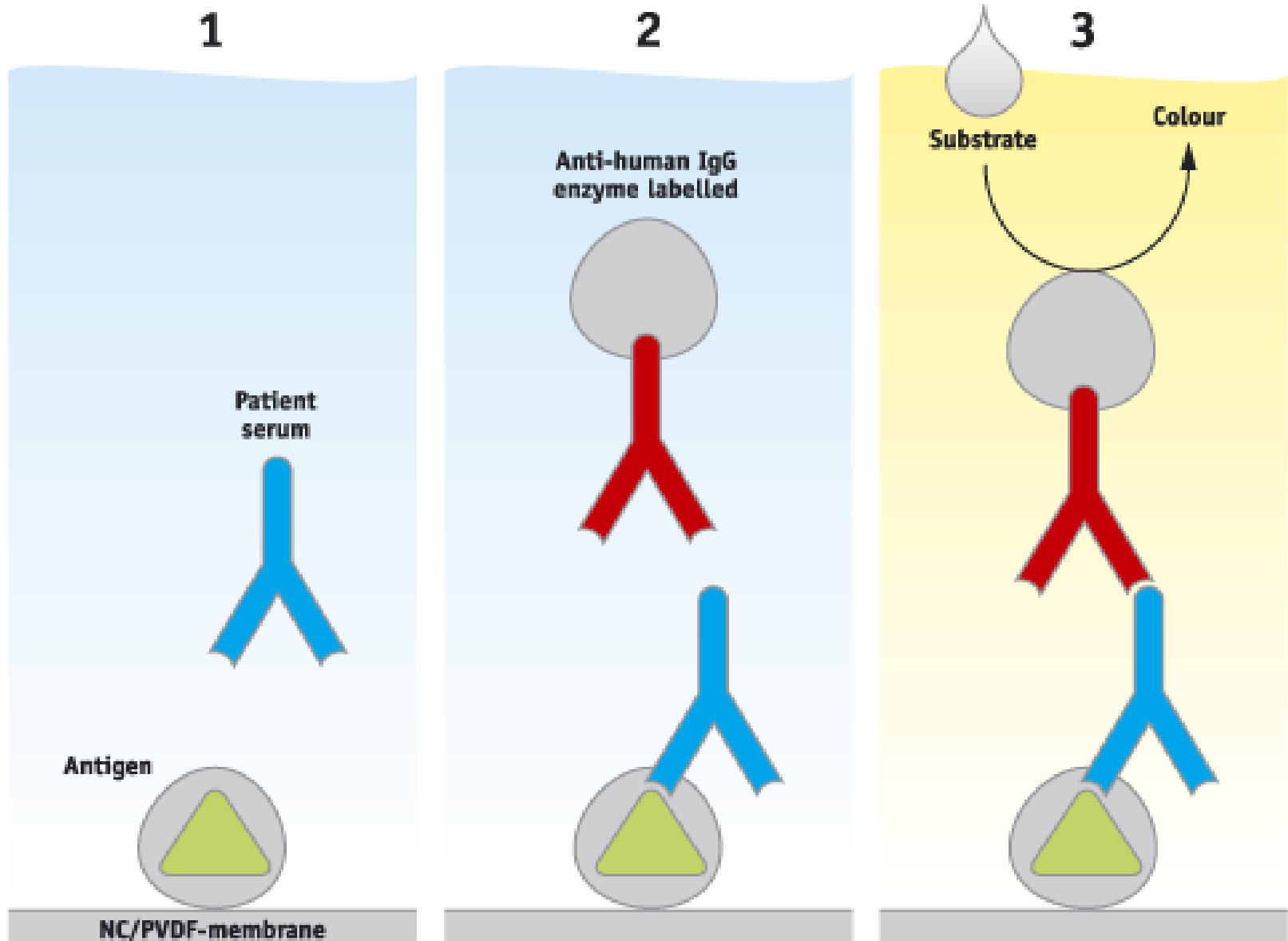
- používá se pro detekci specif. protilátek v séru pacienta (např. autoprotilátek, specifických protilátek proti patogenům)
- v klasickém imunoblotu (westernblot) se nejprve antigeny rozdělí pomocí elektroforézy v gelu (SDS PAGE)
- poté se přesají (blotting) na nitrocelulóзовou membránu (také pomocí migrace v elektrickém poli)
- následuje vlastní vyšetření séra na přítomnost protilátek:
 - k antigenům na nitrocelulóзовé membráně se přidá sérum pacienta, pokud jsou přítomny protilátky, naváží se na příslušné antigeny
 - k vizualizaci pozitivního výsledku se využívá sekundární protilátka proti lidským imunoglobulinům s navázanou značkou (nejčasteji enzymem – barevná reakce)

Imunodot, line assay

- modifikací klasického imunoblotu (westernblotu) jsou imunodot (dot blot) a line assay, kdy jsou na určená místa nitrocelulózové membrány naneseny jednotlivé antigeny v rovnoměrných vzdálenostech v podobě teček nebo proužků
- antigeny jsou v tomto případě izolované a přečištěné nativní proteiny nebo rekombinantní proteiny
- ve všech případech se jedná o multiplexové techniky, kdy se při jednom vyšetření testuje přítomnost více různých protilátek

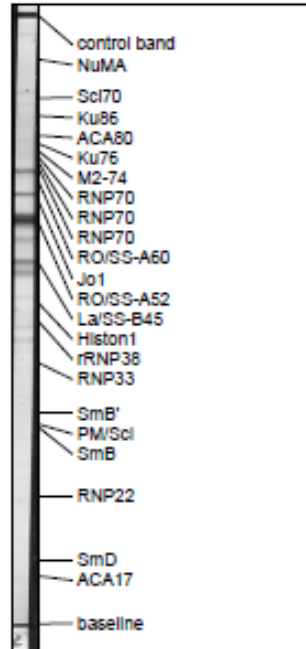
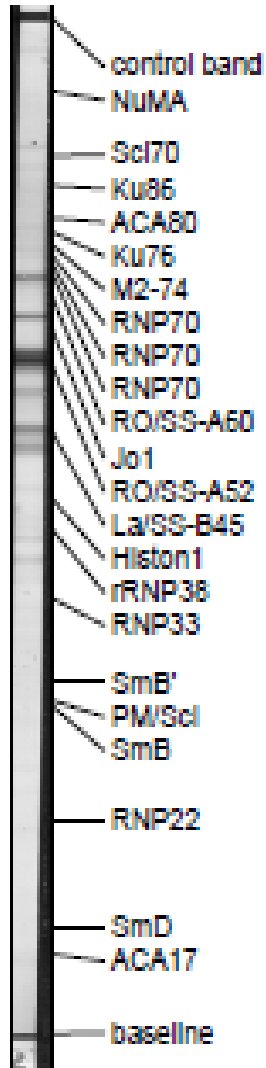
Postup pro imunoblot

- výrobce dodává nitrocelulókové stripy s nanesenými antigeny
- vaničku se stripy vložit do přístroje AutoBlot
- přidat blokovací roztok, inkubace – zabránění nespecifických vazeb
- promytí
- do příslušných žlábků přidat sérum pacienta, inkubace
- promytí
- přidat konjugát (sek. protilátka značená enzymem)
- promytí
- inkubace se substrátem (u pozitivních vzorků dojde ke zbarvení)
- stop činidlo
- stripy osušit



AutoBlot 3000





Date: We 05. Feb 2014

Patient: 2038

Antigene: ANA

Antibodies: IgG

Positive Bands:

La/SS-B45:	89 %	++
RO/SS-A52:	100 %	+++

Weak Indicators:

rRNP38:	19 %	(+)
---------	------	-----

Cutoffs:
 0 % - 14 % = negative
 15 % - 24 % = (+) indeterminate
 25 % - 49 % = ++ weakly positive
 50 % - 99 % = +++ positive
 100 % = ++++ highly positive

Findings:

Comments:

Signature

Vyhodnocení vyšetření anti- nukleárních protilátek programem AID Western Blot Scanner (Autoimmun Diagnostika GmbH)

Na obrázku vidíme pacienta se silnou pozitivitou anti-SS-A a pozitivitou anti-SS-B protilátek.