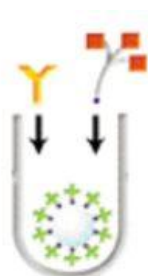


Stanovení koncentrace specifického IgE v séru

1. Ke kuličce se streptavidinem **ST** je pipetován: alergen navázaný na rozpustné matrici s biotinem **B** + patientský vzorek (sérum Spec. **IgE**).
2. Následuje 30 min inkubace, kdy probíhá vazba alergen – protilátka a zároveň vazba streptavidin – biotin, a tím zakotvení komplexu na kuličku.
3. Po inkubaci a promytí kuličky je pipetován konjugát (**anti IgE** s alkalickou fosfatázou (enzym **AF**)).
4. Následuje 30 min inkubace, kdy probíhá vazba anti IgE na specifické IgE ze vzorku.
5. Po inkubaci a promytí je pipetován substrát. Dochází k reakci enzym – substrát. Substrát je dioxetan-adamantyl-fosfát, který obsahuje vysoce energeticky bohatou vazbu mezi 2 kyslíky, dále pyridinové jádro s fosfátovou skupinou PO₃; alkalická fosfatáza z konjugátu odštípne PO₃, tím se celá molekula rozpadne a uvolní se vazba mezi kyslíky, což se projeví luminiscencí.
6. Měří se počet fotonů za sekundu (CPS – counts per second) vyzařovaný při uvolnění vazby. Měření se provádí až po 5 minutách inkubace se substrátem, kdy už je luminiscence stabilní. Měření probíhá opakovaně a kontinuálně s korekcí pomocí filtrů a fotonásobičů, aby měření probíhalo v optimálním koncentračním rozmezí.



Serum and allergens incubate with ligand-coated bead.



Liquid allergens bind to serum antibodies and to the ligand-coated bead.



Antibody conjugate binds to serum IgE.



Substrate initiates chemiluminescent reaction.