

OBSAH

OBSAH	3
1 ÚVOD	5
2 ANTIGENY A HAPTENY	6
3 PROTILÁTKY	7
3.1 STRUKTURA IMUNOGLOBULINŮ	7
3.2 PŘÍPRAVA PROTILÁTEK	14
3.2.1 <i>Polyklonální protilátky</i>	14
3.2.2 <i>Monoklonální protilátky</i>	16
3.2.3 <i>Rekombinantní protilátky</i>	20
3.2.4 <i>Fragmenty a konstrukty molekuly imunoglobulinu</i>	22
4 INTERAKCE PROTILÁTKY S ANTIGENEM	24
4.1 ROVNOVÁŽNÉ KONSTANTY	25
4.2 ROVNOVÁŽNÁ ASOCIAČNÍ KONSTANTA PŘI ELISA	27
4.3 VAZEBNÁ HETEROGENITA	29
4.4 AFINITA, AVIDITA	29
4.5 SPECIFITA INTERAKCE PROTILÁTKY S ANTIGENEM	31
4.6 KINETIKA INTERAKCE PROTILÁTKY S ANTIGENEM	33
5 KONJUGÁTY V IMUNOCHEMII	36
5.1 PŘÍPRAVA HAPTENOVÝCH IMUNOGENŮ A POTAHOVACÍCH KONJUGÁTŮ.....	36
5.2 ZNAČENÍ POMOCÍ RADIONUKLIDU.....	41
5.3 ZNAČENÍ ENZYMEM	41
6 IMUNOANALÝZA	48
6.1 PRECIPITAČNÍ IMUNOCHEMICKÉ METODY	49
6.2 NEPRECIPITAČNÍ IMUNOCHEMICKÉ METODY SE ZNAČKOU	56
6.2.1 <i>Kompetitivní metody</i>	56
6.2.2 <i>Nekompetitivní metody</i>	57
6.2.3 <i>Heterogenní metody</i>	57
6.2.4 <i>Homogenní metody</i>	57
6.2.5 <i>Radioimunoanalýza</i>	58
6.2.5.1 <i>Kompetitivní RIA</i>	58
6.2.6 <i>Enzymová imunoanalýza</i>	61
6.2.6.1 <i>Enzymová imunoanalýza na pevné fázi (heterogenní)</i>	61
6.2.6.2 <i>Homogenní enzymová imunoanalýza</i>	64
6.2.6.3 <i>Enzymy používané v enzymové imunoanalýze</i>	66
6.2.6.4 <i>Zakotvení imunoreaktantů na pevnou fázi</i>	69
6.2.6.5 <i>ELISA v mikrotitračních destičkách</i>	70
6.2.6.6 <i>Imunoblotovací metody („western-blot“)</i>	71
6.2.7 <i>Fluorescenční imunoanalýza (FIA)</i>	71
6.2.8 <i>Chemiluminiscenční imunoanalýza (CIA)</i>	72
6.2.9 <i>DNA jako značka a finální znásobení počtu jejích molekul technikou PCR</i>	73
6.2.10 <i>Použití jiných značek při imunoanalýze</i>	76
6.2.11 <i>Možnosti zesílení signálu značky pro dosažení lepší citlivosti</i>	76
6.2.12 <i>Robustní a jednoduché uživatelsky přívětivé formáty</i>	82
7 PROTILÁTKOVÝ MIKROARRAY (IMUNOČIPY)	84
7.1 ZAKOTVENÍ PROTILÁTEK NA PEVNOU FÁZI PRO ARRAY-FORMÁT	87
7.2 KVANTIFIKACE ANALYTU V PROCEDUŘE ARRAY-FORMÁTU; ZESÍLENÍ SIGNÁLU	91

8	IMUNOSENZORY, PROTILÁTKOVÉ ELEKTRODY
8.1	PŘÍMÉ IMUNOSENZORY
8.2	NEPŘÍMÉ IMUNOSENZORY
8.3	KOMERČNĚ VYRÁBĚNÉ IMUNOSENZORY
8.4	MIKROFLUIDNÍ IMUNOANALYTICKÉ SYSTÉMY
9	IMUNOANALÝZA S KAPILÁRNÍ ELEKTROFORÉZOU
10	IMUNOAFINITNÍ CHROMATOGRRAFIE
11	LABORATORNÍ ÚLOHY
11.1	IMUNOPRECIPITAČNÍ REAKCE V ROZTOKU
11.2	AGLUTINAČNÍ DETEKCE KRAVSKÉHO MLÉKA KOMERČNÍ SOUPRAVOU
11.3	DVOJITÁ RADIÁLNÍ IMUNODIFÚZE
11.4	PROTISMĚRNÁ IMUNOELEKTROFORÉZA
11.5	ELEKTROIMUNODIFÚZE
11.6	„WESTERN BLOTTING“ S IMUNODETEKČÍ
11.7	„DOT BLOT“ IMUNOTECHNIKA
11.8	KOMPETITIVNÍ ENZYMOVÁ IMUNOANALÝZA (ELISA) NA MIKROTITRAČNÍCH DESTIČKÁCH
12	POUŽITÁ LITERATURA