Immunoassay, kompetitiver

G. Töpfer
Schöpstal, Deutschland

Synonym(e) LIA

Englischer Begriff competitive immunoassay

Definition Entweder das Antigen (oder Hapten) der Probe konkurriert mit einem Tracer-markierten Antigen um die im Überschuss an der festen Phase immobilisierten Antikörper, oder das Antigen (oder Hapten) an die feste Phase gebunden konkurriert mit flüssigem Probenantigen (oder Hapten) um die Bindungsstellen des markierten (zunächst) in der Flüssigphase befindlichen Antikörpers (mit weniger Bindungsstellen als die Antigene insgesamt). An die Bildung der Immunkomplexe schließt sich die Trennung von Antikörper (Antigen) gebundenen Tracermolekülen von nicht im Immunkomplex gebundenen Tracer (Waschzyklus) und die Detektionsreaktion an.

Beschreibung Ist ein heterogener Immunoassay (► [Immunoassay, heterogener](#)), abgeleitet von ► [Radioimmunoassay](#), bei dem die Antigenmoleküle der Probe (z. B. Insulin) mit radioaktiv markiertem Antigen (immer gleicher Konzentration) um die im Überschuss an der Röhrchenwand fixierten Antikörpermoleküle konkurrieren. Ersetzt man die radioaktive Markierung durch ein Enzym, so liegt ein ► [Enzymimmunoassay](#) (EIA) vor, desgleichen kann die Markierung auch mit Fluoreszenzfarbstoffen (FIA) oder Luminogenen (LIA) erfolgen. Die Eichkurve ist abfallend, d. h., die niedrigste Konzentration des Analyten bringt das höchste Signal. In der Regel stellt man die Bindungskapazität des Antikörpers so ein, dass maximal 50 % des markierten Antigens gebunden werden.

In einer anderen Form wird das Antigen oder Hapten (hier über ein Trägerprotein) an die Röhrchenwand gebunden. Das Probenantigen (Hapten) konkurriert mit dem fixierten Antigen um die konstanten, im Überschuss vorliegenden Bindungsstellen des markierten Antikörpers. Der Vorteil ist, dass unspezifische Antikörper weniger an das fixierte Antigen als an den fixierten Antikörper binden (z. B. Rheumafaktoren), damit keine Blockierung.

Trennung der (markierten) Antigen-Antikörper-Komplexe vom Reaktionsgemisch Die früher (beim ► [Radioimmunoassay](#)) übliche unspezifische Abtrennung markierter Immunkomplexe mit Aktivkohle oder die spezifische Abtrennung mit einem zweiten Antikörper unter Beschleunigung mit PEG wurden weitgehend durch die Solid-Phase-Methode ersetzt. Eine Möglichkeit der Trennung von gebundenen und ungebundenen Tracer-Molekülen (wenn keine fixierten Antikörper/Antigene eingesetzt wurden) besteht in einer Auftrennung des Reaktionsgemisches mittels ► [Hochleistungs-Flüssigkeitschromatographie](#) (HPLC) oder ► [Kapillarelektrophorese](#). Es erfolgt dann die getrennte Detektion beider Komponenten (Prä-Column-Immunoassay). HPLC-Methoden sind andererseits geeignet, eine Vorreinigung und Konzentration des Analyten vor dem Immunoassay durchzuführen (z. B. bei Spurenanalyten, Entfernung von Metaboliten bzw. kreuzreagierenden Substanzen – Post-Column-Immunoassay).

Literatur

- Porstmann T, Porstmann B (1987) Immunologische Arbeitsmethoden, 4. Aufl. Fischer, Jena, S 135–150
Schößler W, Töpfer G, Rüger HJ (1988) Ein einfacher und schneller Enzymimmunoassay zur quantitativen Bestimmung des C-reaktiven Proteins. J Clin Chem Clin Biochem 26:75–78