Sandwich-Assay

W. Stöcker und W. Schlumberger
Euroimmun Medizinische Labordiagnostika AG, Lübeck,
Deutschland

Synonym(e) Capture Assay

Englischer Begriff sandwich assay

Definition Der Sandwich-Assay ist ein heterogener, nicht-kompetitiver Assay, bei dem das zu messende Antigen oder der zu bestimmende Antikörper einer Probe zwischen 2 Reaktionspartnern (Antikörpern bzw. Antigenen) gebunden wird.

Beschreibung Beim Sandwich-Assay wird das zu messende Antigen (► [Antigen Capture Assay](#)) oder der zu bestimmende Antikörper (► [Antibody Capture Assay](#)) einer Probe zwischen 2 Antikörpern bzw. 2 Antigenen gebunden. Es kommen alle für Immunoassays verwendeten Marker und Detektionssysteme in Betracht. Es gibt Festphasen- und Flüssigphasen-Sandwich-Assays.

Bei Festphasenassays wird zur Antigenbestimmung das Antigen der Probe in einem ersten Inkubationsschritt mit einem an die feste Phase fixierten Antikörper zur Reaktion gebracht. Anschließend werden die ungebundenen Anteile der Probe mit einem Waschschriff entfernt. Je höher die Antigenkonzentration der Probe ist, umso mehr Antigen bindet sich. Im nächsten Schritt lässt man markierte Antikörper mit den Immunkomplexen der festen Phase reagieren und nach Beendigung der Reaktionszeit wird überschüssiger Marker mit einem Waschschriff entfernt. Die Antigenbestimmung kann auch als Einschriff-Sandwich-Assay durchgeführt werden: Dann werden die Probe und die markierten Antikörper initial simultan mit den Festphasen-fixierten Antikörpern inkubiert.

Zur Antikörperbestimmung wird der Antikörper der Probe in einem ersten Inkubationsschritt mit einem an die feste Phase fixierten Antigen zur Reaktion gebracht. Anschließend werden die ungebundenen Anteile der Probe mit einem Waschschriff entfernt. Je höher die Antikörperkonzentration der Probe, umso mehr Antikörper bindet sich. Im nächsten Schritt reagieren markierte (gegen den nachzuweisenden Antikörper der Probe gerichtete) Antikörper oder markierte Antigene („labelled antigen assay“) mit den Immunkomplexen an der festen Phase, und nach Beendigung der Reaktionszeit wird der überschüssige Marker mit einem Waschschriff entfernt. Auch die Bestimmung eines Antikörpers kann als Einschriff-Sandwich-Assay erfolgen.

Bei Flüssigphasenassays werden Immunkomplexe gebildet, die ungebundenen Antigene und Antikörper werden nach der Immunreaktion durch Adsorption, Fällung, Immunpräzipitation oder Affinitätsbindung entfernt.

Es existiert eine Vielfalt von Varianten dieser nichtkompetitiven Immunoassays: Beim μ -Capture-Assay werden speziesspezifische IgG-Antikörper, die gegen das Fc-Fragment des IgM-Antikörpers gerichtet sind, an die feste Phase gekoppelt. An dieses bindet sich das IgM der Probe. Antigenspezifisches IgM wird durch Zugabe des korrespondierenden Antigens identifiziert. Dieses ist entweder selbst markiert („markierter Antigenassay“) oder es wird ein spezifischer, gegen das Antigen gerichteter markierter IgG-Antikörper hinzugegeben.

Ein Störfaktor der Sandwich-Assays ist der ► [High-Dose-Hook-Effekt](#) (Prozonen-Phänomen), er kann insbesondere bei Einschriffinkubationen zu einer starken Verfälschung der Messwerte führen.

Literatur

Wild D (2001) The Immunoassay handbook. Nature Publishing Group, New York, S 3–5