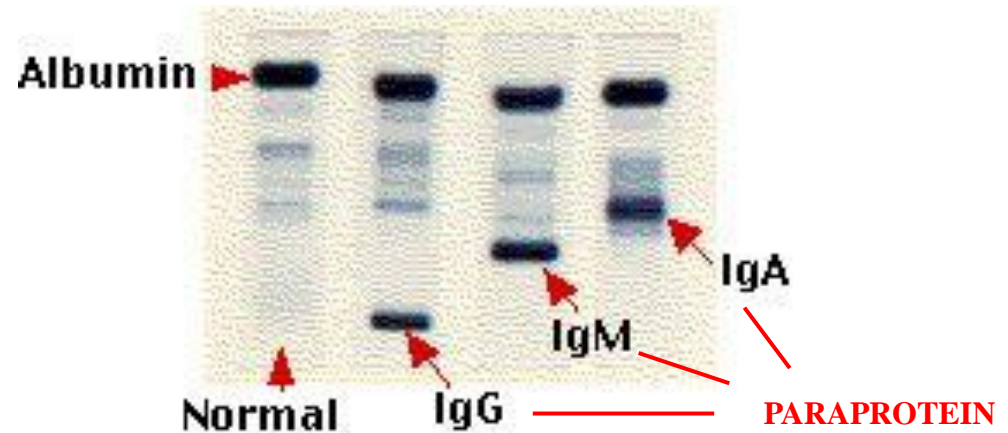
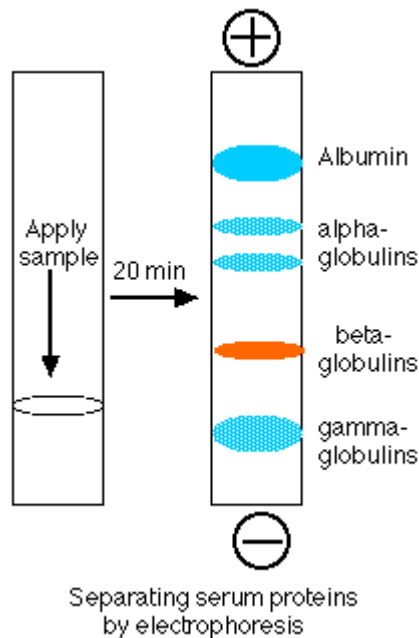


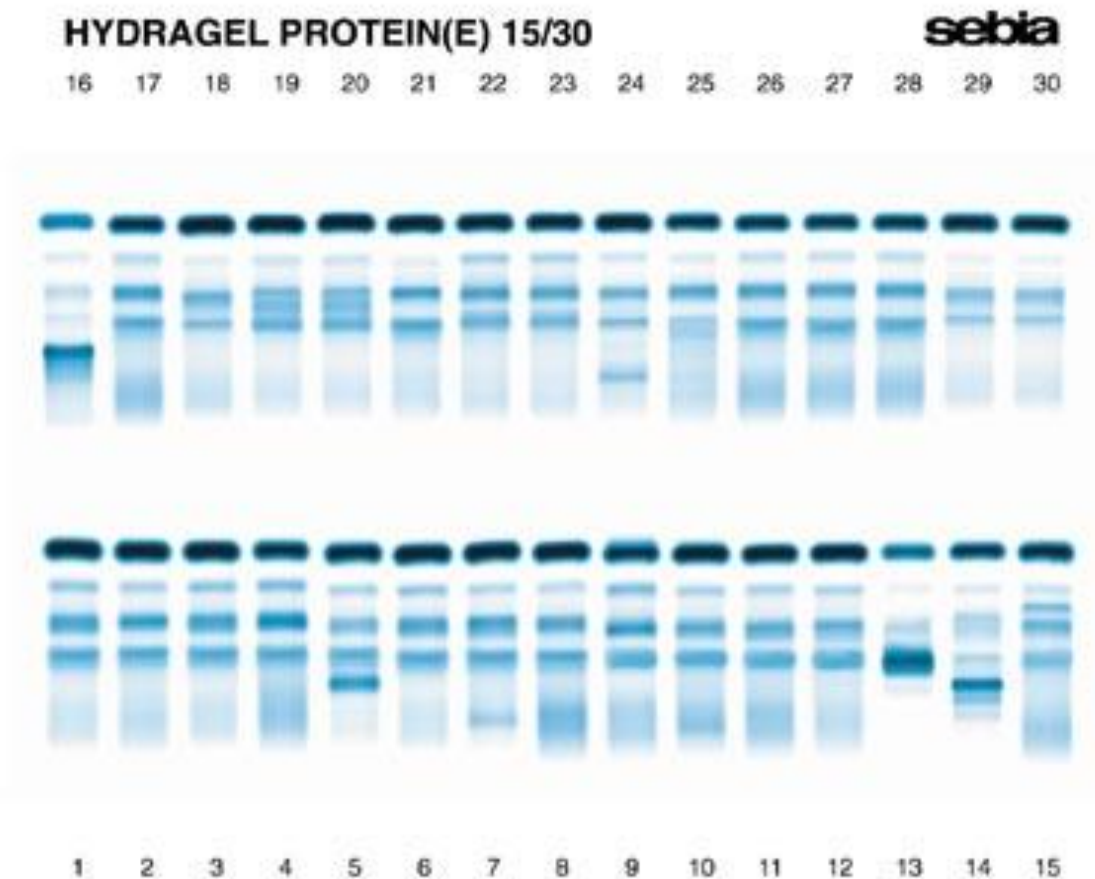
Imunofixace

- Imunofixace slouží především k identifikaci typu paraproteinu – monoklonální imunoglobulin – těžké řetězce IgG, IgA, IgM, IgD, IgE, lehké řetězce kapa, lambda
- Paraprotein a jiné změny lze zachytit už při elektroforéze proteinů séra:



- lze zachytit pouze hrubé změny:
hypergamaglobulinémii,
hypogamaglobulinemii či monoklonální gamapatie (paraproteinémie)

Elektroforéza proteinů séra



Imunofixace

- metoda umožňující identifikaci a typizaci monoklonálních imunoglobulinů v séru, moči nebo mozkomíšním moku.
- dvoustupňová metoda:
- první fáze: směs bílkovin se rozdělí podle ***elektroforetické pohyblivosti***.
- druhá fáze: identifikace typu bílkoviny pomocí specifických protilátek, barvení ***imunoprecipitační reakce***.

Imunofixace

- Elektroforéza směsi bílkovin se uskutečňuje většinou v agarosovém nebo acetátcelulosovém gelu
- v gelu se zhotoví obvykle 6 startů, do nichž se aplikuje vzorek téhož pacienta
- Po skončení elektroforézy se na povrch gelu přiloží šablona s vyříznutými proužky v zónách elektroforetických hdrah

Imunofixace

- Do prvního proužku, který je určen pouze pro elektroforézu, se aplikuje fixační roztok
- Do ostatních vyříznutých proužků se nanáší specifické protilátky proti IgG, IgA, IgM a proti lehkým řetězcům κ nebo λ
- difundují do gelu a v místě, kde reagují s příslušným antigenem vytvářejí imunokomplexy ve formě precipitátu.

Imunofixace

- Promytím vhodným puftrem se odstraní jak antigeny nereagující s aplikovanou protilátkou, tak i nadbytek protilátky.
- Po promytí v gelu zůstanou pouze nerozpuštěné imunokomplexy, vytvářející ohraničný pruh, který se zvýrazňuje obarvením.

Imunofixace

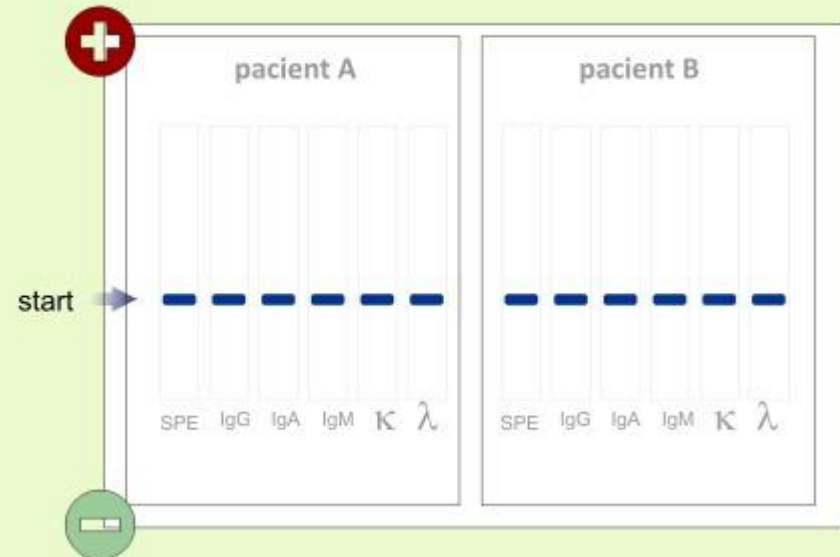
vzorky jsou aplikovány do 6ti specifických stop šablony

pacient A

pacient B



start elektroforetické migrace



Imunofixace

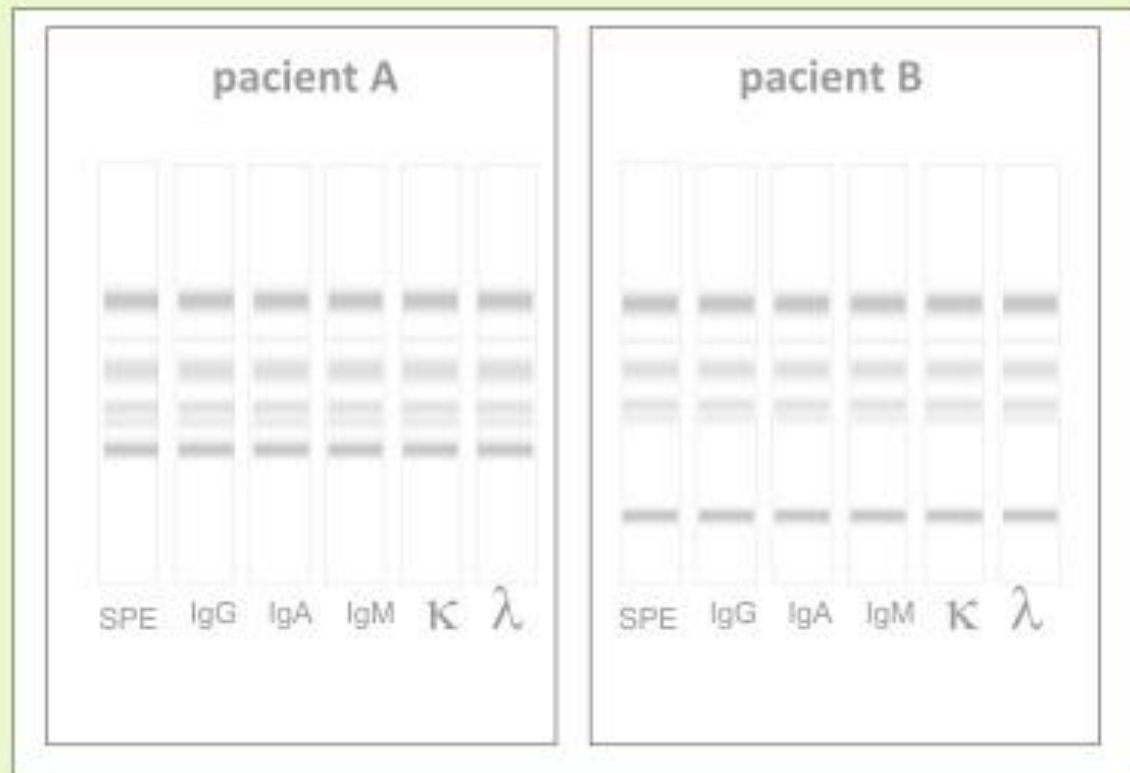
elektroforetická separace proteinů v alkalickém pH



2014/

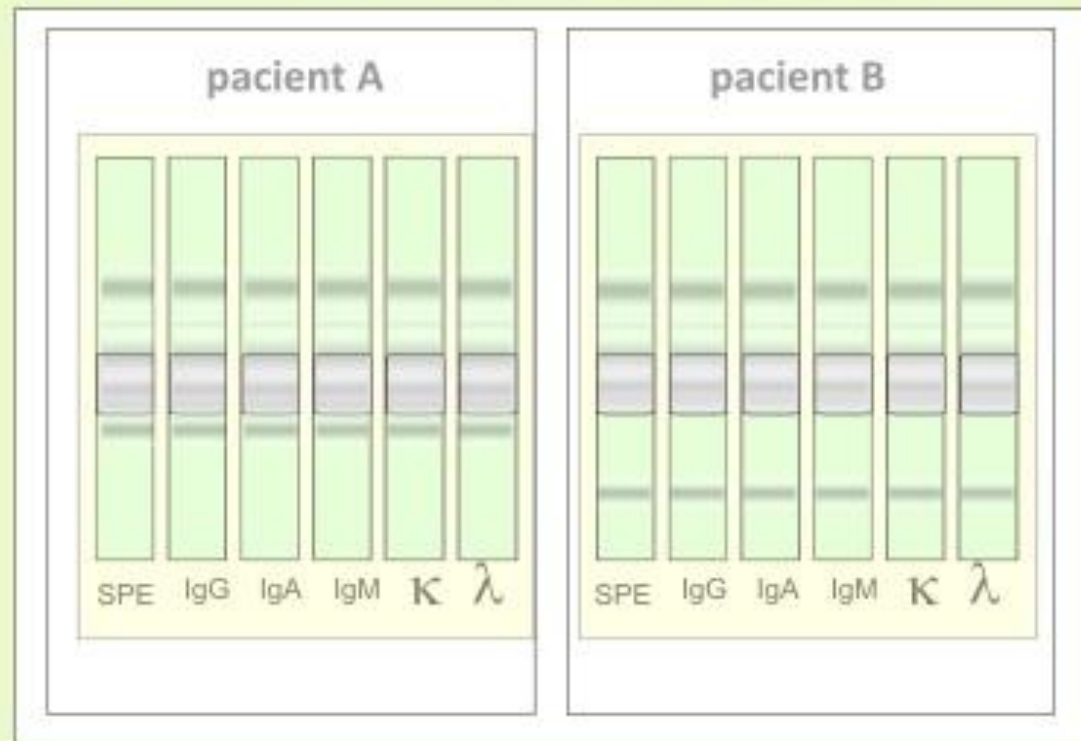
Imunofixace

separované imunoglobulinové molekuly



Imunofixace

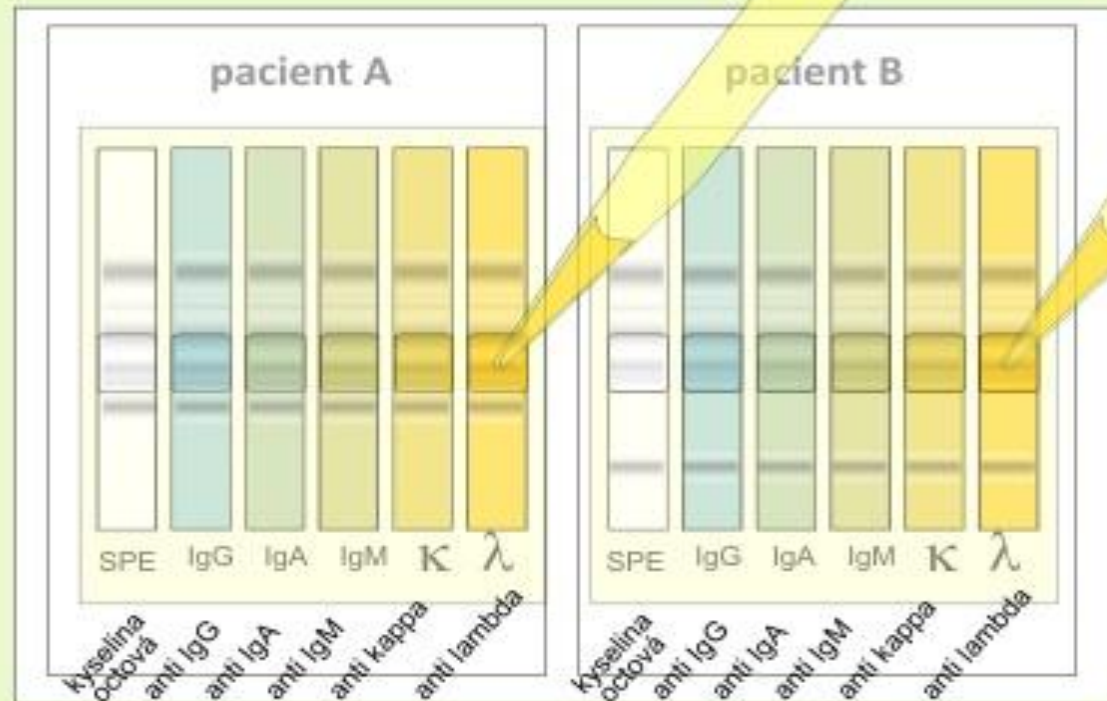
**přiložení magnetické masky
pro aplikaci roztoků antisér**



2014/

Imunofixace

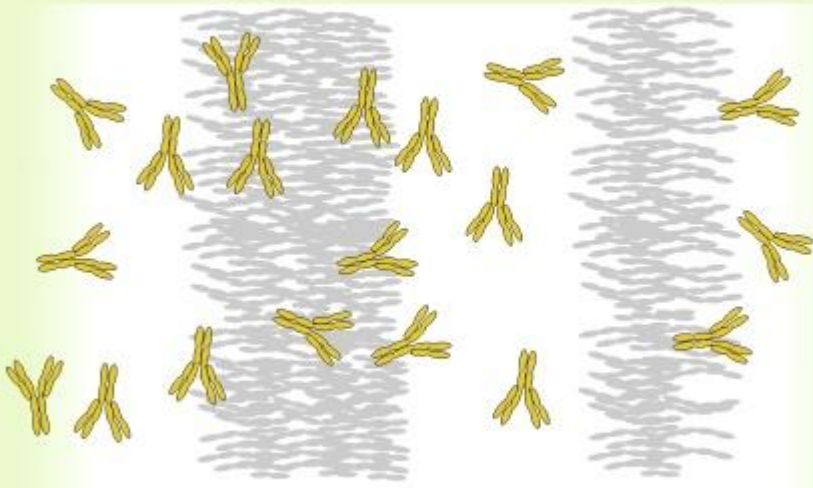
aplikace monospecifických antisér



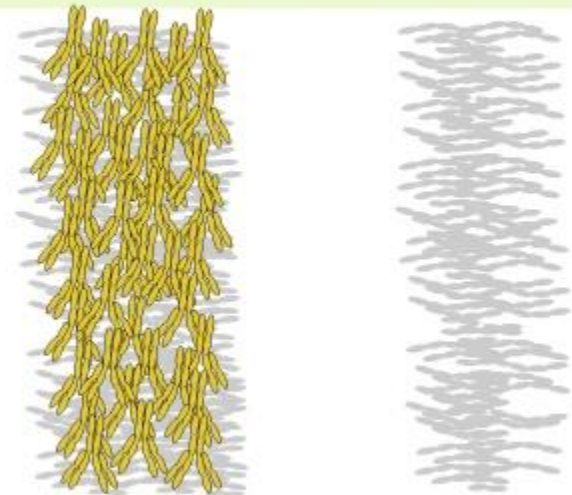
2012/

Imunofixace

monospecifická antiséra

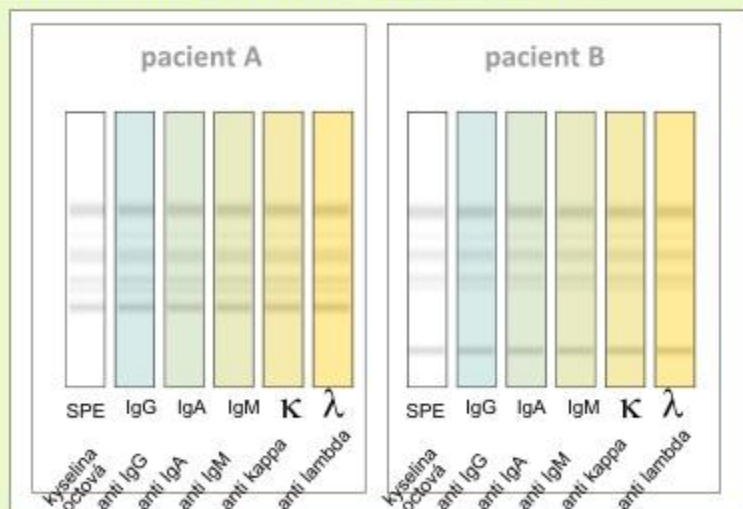


inkubace,
imunoprecipitace s monospecifickými antiséry

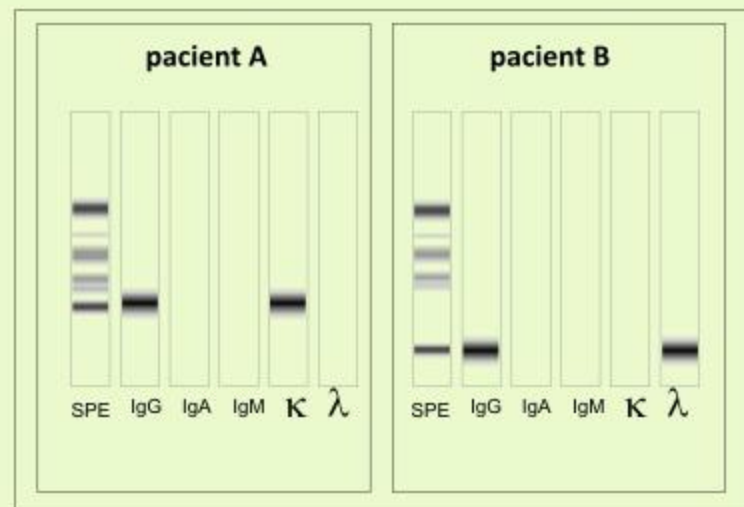


Imunofixace

inkubace,
imunoprecipitace s monospecifickými antiséry

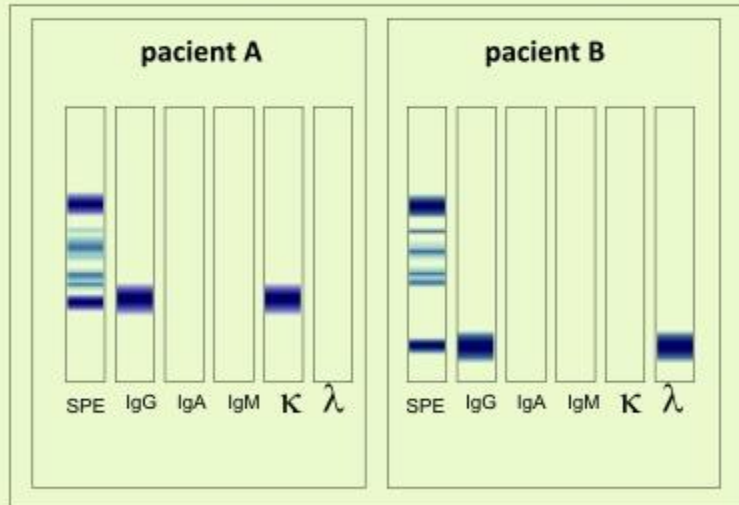


denaturace při 60°C

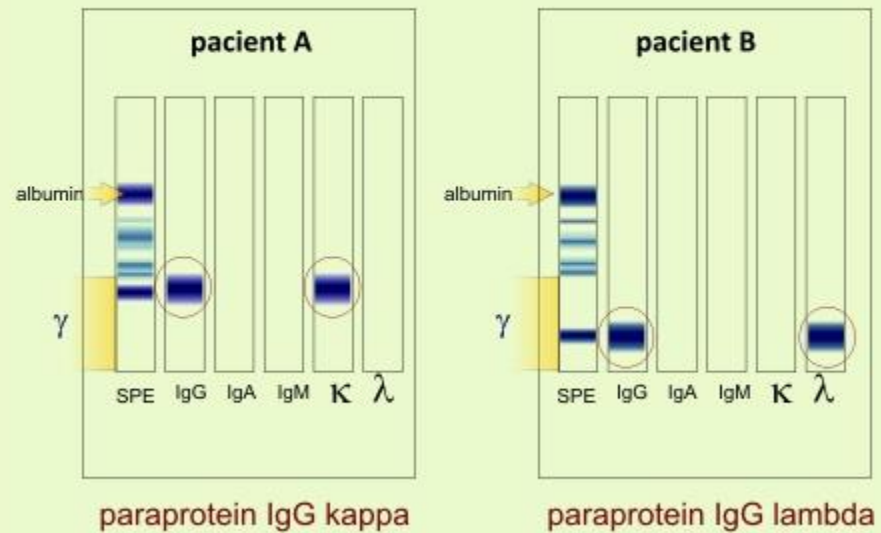


Imunofixace

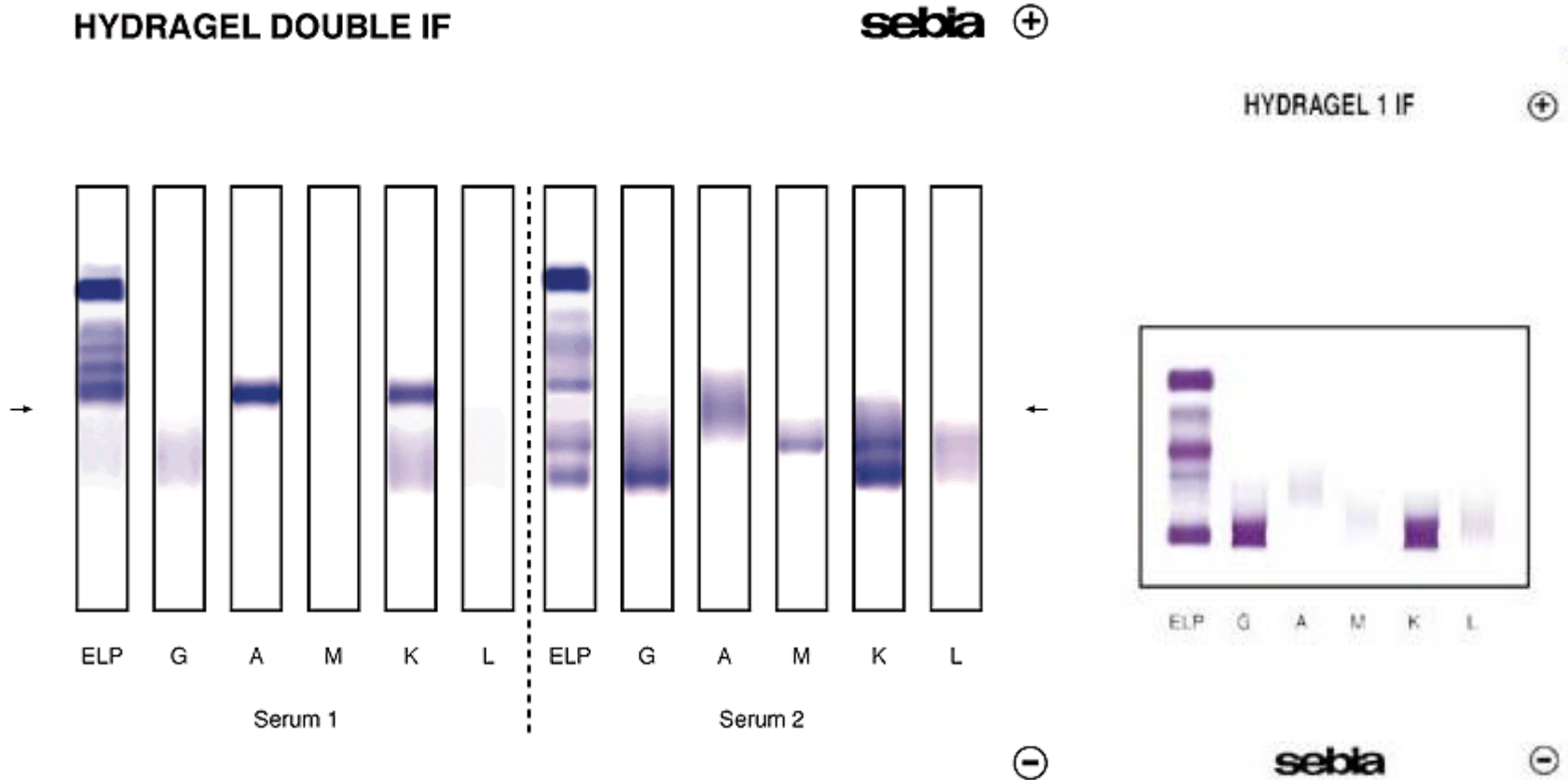
barvení



vyhodnocení



Imunofixace



Pozn. 75 – 80% nemocných mnohočetným myelomem má v moči přítomny monoklonální lehké řetězce (Bence-Jonesova bílkovina/paraprotein). BJB poškozují buňky proximálních tubulů ledvin.

MGUS monoklonální gamopatie nejasného původu