



Elektroforéza



Rozdělení proteinů na základě pohyblivosti v el. poli

K realizaci je nutné mít:

- Stejný el. proud
- Speciální elektroforetické vany
- Vhodný pufr a nosič (dříve papír, acetátcelulóza, agar) nyní agaróza polyakrylamidový gel

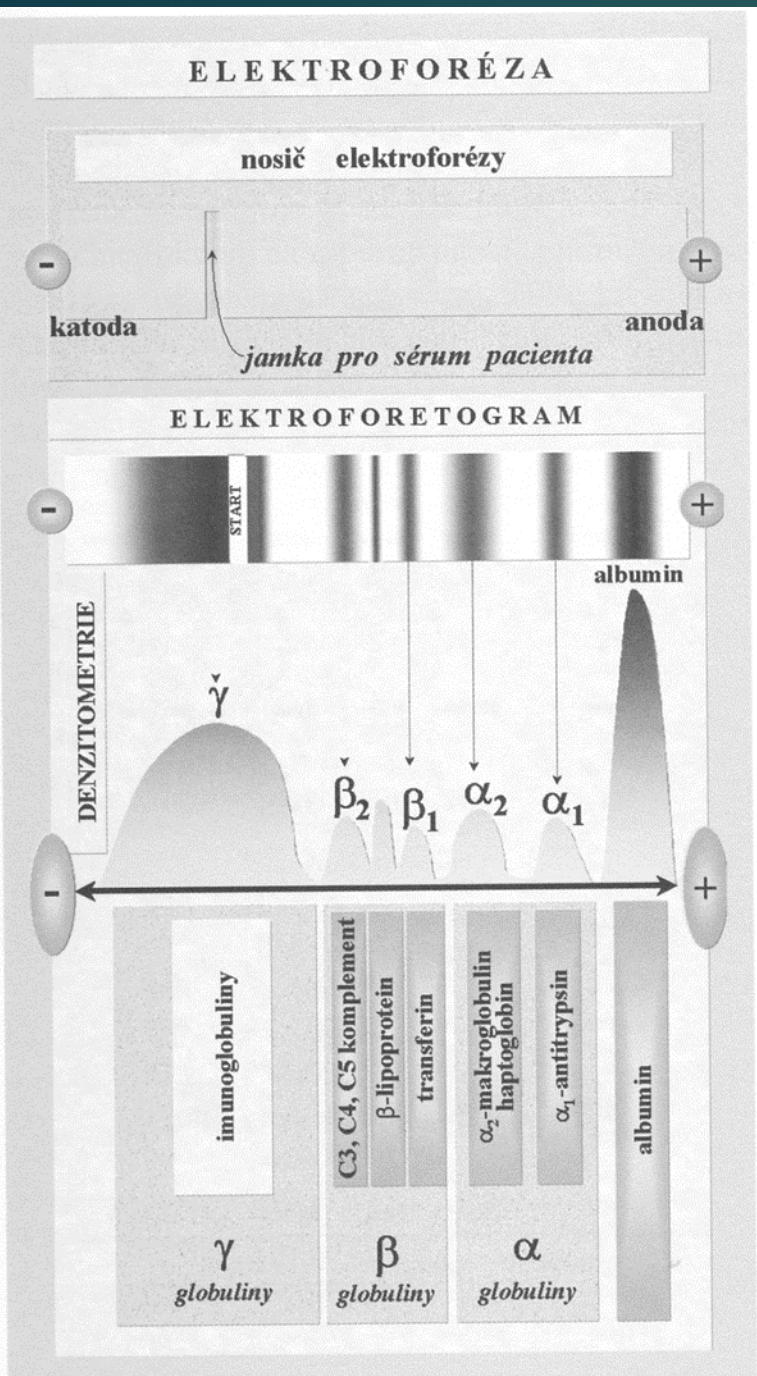
kombinace metod elektroforetických a imunodifúzních

Bílkoviny se oddělují v závislosti na molekulové váze a elektrickém náboji jednotlivých molekul v přítomnosti vhodného pufru a na vhodném nosiči.

- **Dělení séra**

- jednotlivé obloučky znamenají jednotlivé bílkoviny

→ detekce až 35 sérových proteinů



Elfo sérových proteinů

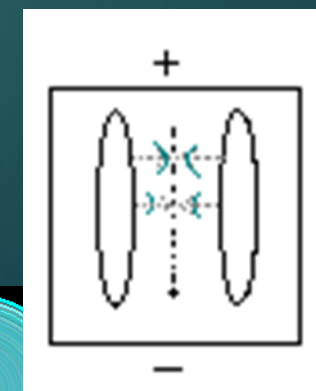
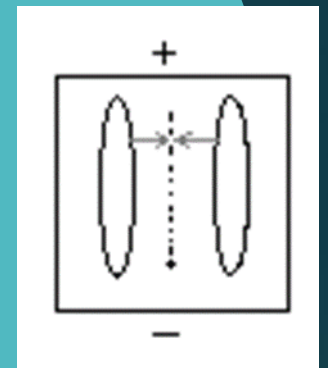
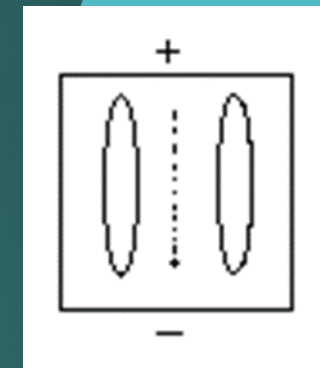
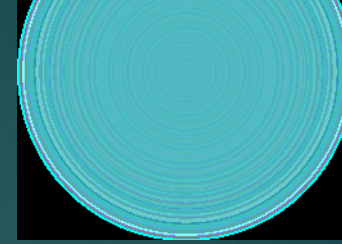
Při běžné elfo se sérum dělí na zónu **albuminu, $\alpha - 1$, $\alpha - 2$, β , γ globulinů**. Stanovení zastoupení jednotlivých frakcí může mít význam při hodnocení stádia zánětlivého procesu. Při akutních zánětech stoupá zastoupení albumínů a $\alpha - 1$, později i $\alpha - 2$ globulinů, při chronických zánětech dochází ke zvýšení zastoupení γ globulinů a poklesu albuminu

Imunoelektroforéza podle WILLIAMSE a GRABARA:

- 1953 Williams a Grabar
- 2 stupně: 1. **připravení destičky** (agarózní gel s 1% křemíkem)
- vytvoření 2 žlábků a nanesení Ag mezi ně
- po rozdělení elektroforézou se do žlábků 2. napěťují **protilátky**
- inkubace 48 hodin v lednici → dochází

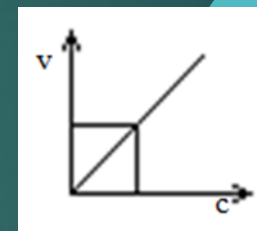
k DIFUZI

- → v místě ekvivalence se vytváří **PRECIPITAČNÍ kružky**



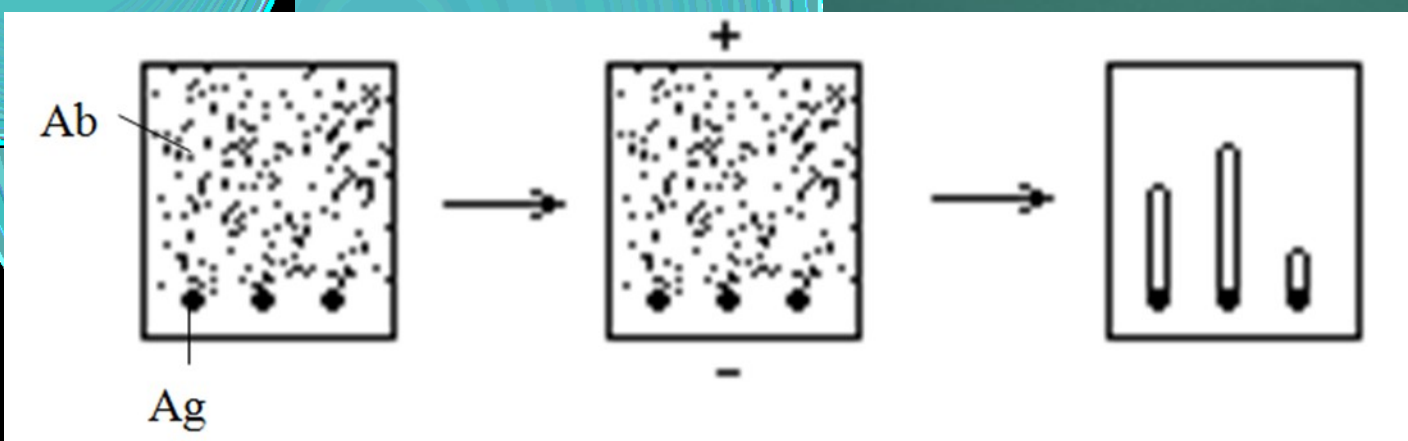
Raketová elfo

- - *Laurell 1966*
- - kombinace jednoduché radiální imunodifúze s elektroforézou
- - monospecifická *Ab* + *jeden Ag* /či *směs Ag*/



užívá se pro zjišťování koncentrace Ag –
koncentrace je přímo úměrná výšce
„raketky“

Ab v gelu



Imunofixace I.

Rozdělení různých proteinů na základě jejich pohyblivosti v el. poli modifikační metodou

1. stupeň: Elektroimunitní sérologie

2. stupeň: na agarózu se položí plastikovaná maska s výřezy, naplní se s antisérou (anti IgG, IgA, IgM, anti kappa, anti lambda), pak porovnání s precip. reakce s normálním sérem. **TSP** – testovaná séra

Hodnocení
a) Okometricky
b) denzitometricky

