

Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA)

David Kitz Kramer (updated by Eri Kinoshita)

Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA) wird zur Messung von Antigen- oder Antikörperkonzentration verwendet. Ein Standard-ELISA erfordert fünf Arbeitsschritte:

1. Beschichten einer Microtiterplatte mit Antigen.
2. Blockieren aller ungebundenen Stellen, um falsch-positive Ergebnisse zu vermeiden.
3. Antikörper zugeben.li>
4. Für die indirekte Methode: sekundären, konjugierten Antikörper hinzugeben.
5. Farbreaktion eines Substrats, welche qualitativ oder quantitativ ausgewertet werden kann

Auf antibodies-online.com finden Sie mehr als 800.000 Produkte für ELISA Anwendungen, darunter sind mehr als [190.000 ELISA Kits](#) für eine große Auswahl an Targets.

Vorteile einer ELISA

Einer der bedeutenden Vorteile der ELISA-Methode ist die Quantifizierbarkeit des Signals. Die Durchführung eines [ELISA Kits](#) erfordert zumindest einen Antikörper, um ein spezifisches Antigen zu detektieren oder das Vorhandensein eines weiteren Antikörpers. Die Probe mit einer unbekannten Menge Antigen wird auf einem Untergrund immobilisiert. Danach wird der Antikörper zur Detektion zugegeben und formt einen Komplex mit dem Antigen. Dieser Antikörper ist mit einem Enzym konjugiert (direkte [ELISA](#) Methode) und erlaubt, in dem letzten Arbeitsschritt, die Umsetzung eines Substrats in ein detektierbares Signal. Anstelle radioaktiven Materials, welches lange Zeit für die Detektion in Assays eingesetzt wurde, werden Enzyme für Farbreaktionen eingesetzt, die positive Resultate anzeigen.

Es gibt zwei hauptsächliche Variationen dieser Methode: [ELISA](#) kann, wie beschrieben, das Vorhandensein eines Antigens detektieren (direkte Methode) oder an einen anderen Antikörper binden, der ein Antigen erkennt (indirekte Methode).

Direkte ELISA Methode

Wie in der Zusammenfassung oben erwähnt, erfolgt bei einem direkten [ELISA](#) das Markieren mit dem primären Antikörper. Microwellplatten werden mit dem Probenmaterial beschichtet, das das gesuchte Antigen enthält. Das binden des markierten Antikörper kann quantifiziert werden. Das direkte [ELISA](#) Verfahren ist schnell, da nur ein Antikörper angewendet werden muss. Probleme mit Kreuzreaktionen aufgrund unspezifischen Bindens werden weitestgehend vermieden. Nachteilig allerdings ist, dass für jedes Antigen ein passender Antikörper markiert werden muss, was zeitaufwändig ist. Ein weiterer Nachteil ist, dass die Signalstärke niedrige sein kann, ein Problem, das die indirekte [ELISA](#) Methode lösen kann.

Indirekte ELISA Methode

Diese [ELISA](#) Methode beinhaltet zwei Schritte. Zunächst bindet ein primärer Antikörper an das Antigen, dann erkennt ein markierter [secondary antibody](#) den ersten Antikörper. Ein Nachteil dieser [ELISA](#) Methode ist, dass es zu starken unspezifischen Hintergrundsignalen kommen kann. Vorteilhaft ist jedoch, dass es durch die Bindung mehrerer [sekundärer Antikörper](#) zu einer signalverstärkenden Wirkung kommt. Vor allem aber ist die größere Flexibilität von Vorteil gegenüber der direkten [ELISA](#) Methode. Primäre Antikörper können unmarkiert verwendet werden und wenige [markierte sekundärer Antikörper](#) reichen, um ein weites Spektrum an primären Antikörpern abzudecken.

Sandwich ELISA

Sandwichmethode misst die Menge Antigen zwischen zwei Lagen von Antikörpern. Sandwich ELISAs haben die Einschränkung, dass das Antigen mindestens zwei Antigenbindungsstellen besitzen muss, damit mindestens zwei verschiedene Antikörper binden können. Nützlich sind die Sandwich ELISAs jedoch, wenn die Konzentration des Antigens gering ist oder eine hohe Konzentration anderer Antigene eine Probe verschmutzen.

Um diesen [ELISA](#) Assay anzuwenden, wird ein sogenannter ([Capture Antikörper](#)) an einen Untergrund gebunden. Das Antigen wird hinzugefügt und bindet an diesen Fangantikörper. Ein zweiter primärer, unmarkierter Detektionsantikörper wird hinzugefügt. Das [Antikörper Paar](#) bindet an das Antigen – das Namensgebende Sandwich ist vollständig. Das Ergebnis kann quantifiziert werden, indem ein markierter [sekundärer Antikörper](#) hinzugefügt wird, der an den zweiten primären Antikörper bindet und die enzymatische Farbreaktion katalysiert. Vorteilhaft ist es, dass das Antigen nicht aufgereinigt werden muss, da die Methode hochspezifisch ist. Ein Nachteil ist es jedoch, dass nicht alle Antikörper für diese Methode verwendet werden können.

Kompetitiver ELISA

Ein unmarkierter Antikörper wird bei der kompetitiven [ELISA](#) an einen Untergrund gebunden (Microtiterplatte). Dieser primäre Antikörper wird dann jeweils mit unmarkierten Standards oder den zu messenden Proben inkubiert. Sobald diese Reaktion ihr Gleichgewicht erreicht hat, wird ein konjugiertes Antigen oder ein mit einem Enzym gebundener Antikörper hinzugefügt. Das Antigenkonjugat bindet den primären Antikörper überall dort, wo er nicht an unmarkiertes Antigen aus der Probe gebunden hat. Daraus folgt, je mehr Antigen in der Probe oder dem Standard vorhanden ist, desto weniger konjugiertes Antigen kann gebunden werden. Ein Substrat ergibt ein Farbreaktion die ausgemessen werden kann.

Der Vorteil der kompetitiven [ELISA](#) ist, dass nicht-aufgereinigter Antikörper verwendet werden kann. Im kompetitiven ELISA ist das Verhältnis zwischen der Konzentration des gesuchten Antigens und der Signalstärke umgekehrt proportional, d.h. je geringer die Signalstärke, desto größer die Menge gesuchten Proteins in der Probe.

Quantifizierung des Signals

Nach der Bindung des Antikörpers, beziehungsweise der Antikörper, wird eine normalerweise farbloses Reagenz zugegeben. Das Enzym spaltet das Reagenz und eine lösliche Farbe entsteht. Schon geringe Enzymmengen würden über einen längeren Zeitraum das vorhandene Reagenz komplett spalten. Alle Proben hätten dann die gleiche optische Dichte. Darum muss die Reaktion nach einer definierten Zeit, wenn gute Kontraste sichtbar sind, abgebrochen werden. Dazu wird das Enzym zerstört und man stoppt so die Farbreaktion. Dies geschieht beispielsweise durch Zugabe einer schwachen Säure. Danach wird die optische Dichte in einem Photometer bei der entsprechenden Wellenlänge gemessen.

Auf [Antikörper-online.com](#) finden Sie ein [großes Portfolio an hochwertigen ELISA-Kits](#) verschiedenster Hersteller. Wir möchten Sie einladen, Tausende von Produkten miteinander zu vergleichen und das richtige ELISA-Kit für Ihren Versuch zu finden. Wenn Sie Unterstützung benötigen, hilft Ihnen unser Kundendienst gerne weiter.

Populäre ELISA Kit Produkte

[Lipopolysaccharides \(LPS\) ELISA Kit](#)

Sample Type

Cell Culture Supernatant, Cell Lysate, Plasma, Serum, Tissue Homogenate

Method

Quantitative Competition ELISA

NACH OBEN ↑

PINP ELISA Kit	
Sample Type Cell Culture Supernatant, Cell Lysate, Plasma, Serum, Tissue Homogenate Kat. Nr. ABIN6574243	Analytical Method Quantitative Sandwich ELISA Validierungen  (13)  (6)
Menge 96 tests	

SARS-CoV-2 N-Protein IgG Antibody ELISA Kit	
Sample Type Plasma, Serum Kat. Nr. ABIN6952772	Analytical Method Quantitative Indirect ELISA Validierungen  (1)  (1)  (1)
Menge 96 tests	

C3 ELISA Kit	
Sample Type Plasma, Serum Kat. Nr. ABIN414464	Analytical Method Quantitative Sandwich ELISA Validierungen  (6)  (1)
Menge 96 tests	

Alle ELISA Kits durchsuchen

Sie sind hier:

[Startseite](#) / [Ressourcen](#) / Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA)

Service

- Kontakt
- Hilfe
- Newsletter
- Ressourcen
- Top Antigen Products
- Target Index

Top-Kategorien

- Custom Antibodies
- Custom Assays
- AccuSignal™ Nuclease ELISA Kit
- FcRn Antibody
- Rabbit RFP Antibody
- IHC Antikörper
- ELISA Kits
- CUT&RUN Sets
- Human Platelet Lysate (hPL)

Zahlungsmöglichkeiten

 **BESTELLUNG**

  

  

 **MONEY-BACK-GUARANTEE**

Kontakt

antikoerper-online.de
Schloss-Rahe-Str. 15
52072, Aachen
Deutschland

Telefon +49 (0)241 95 163 153
Fax +49 (0)241 95 163 155

Partners
Rockland Immunochemicals, Inc.

 Deutsch  Deutschland