

Vergleich der Antikörper (AK)-Adsorption auf BRANDplates® immunoGrade™ und einer High-Binding-Platte eines anderen Anbieters:

Bei ELISAs hängt die Reproduzierbarkeit und Genauigkeit unter anderem von der konstant immobilisierten Menge des Beschichtungs-AKs ab. Variiert die Menge im Well gebundener Beschichtungs-AK, resultieren daraus probenunabhängige Unterschiede, die zu Fehlinterpretation von Ergebnissen führen können. Um dies zu verhindern, empfiehlt es sich alle freien Bindungsstellen eines Wells mit dem Beschichtungs-AK zu sättigen oder aber z.B. mit BSA oder fettfreier Milch zu blockieren, um ein falsch-positives Signal durch unspezifisch immobilisierte Analyten zu verhindern. Jedoch müssen zur Sättigung der Bindungsstellen Antikörper im Überschuss zugegeben werden, wodurch diese Vorgehensweise sehr kostspielig werden kann.

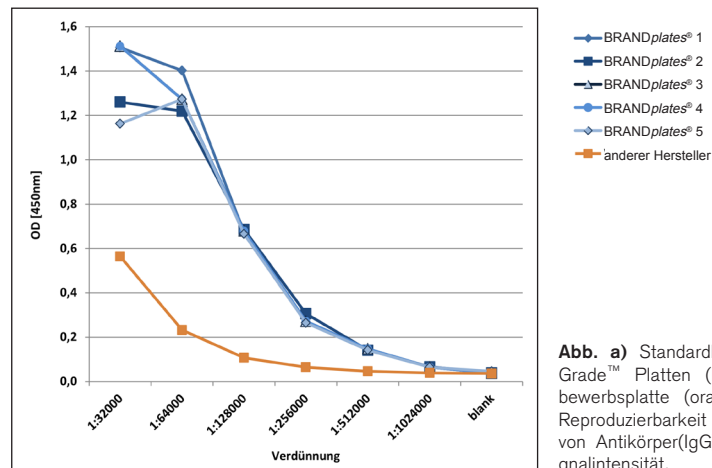


Abb. a) Standardkurven von 5 immunoGrade™ Platten (blau) und einer Wettbewerbsplatte (orange) zeigen die hohe Reproduzierbarkeit und direkte Korrelation von Antikörper(IgG)-Konzentration und Signalintensität.

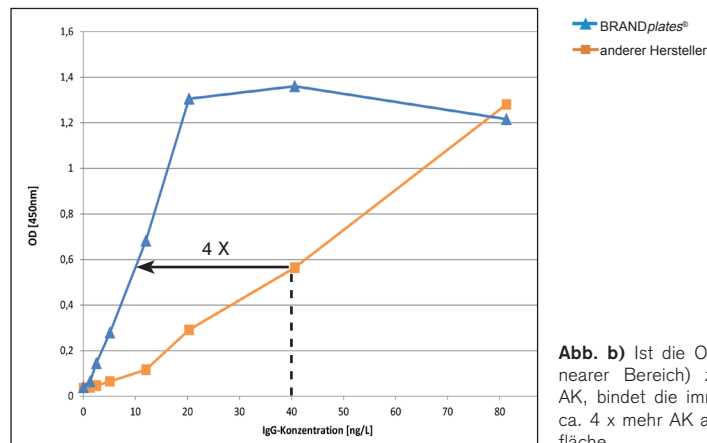


Abb. b) Ist die OD direkt proportional (linearer Bereich) zur Menge gebundener AK, bindet die immunoGrade™ Oberfläche ca. 4 x mehr AK als die Wettbewerbsoberfläche.

Material und Methoden:

Transparente 96-well Mikrotiterplatten mit F-Boden (BRANDplates® immunoGrade™ # 781722, BRANDplates® pureGrade™ # 781602 und Wettbewerber) wurden mit einem Meerrettichperoxidase-(horse raddish peroxidase, HRP)-gekoppeltem, polyklonalen Kaninchen-Antikörper (IgG, P0214, Dako, Dänemark) in ansteigenden Verdünnungen (1:16.000 bis 1:1.024.000 in PBS) bzw. absteigenden Konzentrationen (81,3 ng/l bis 1,3 ng/l) inkubiert und nachfolgend mit PBS gewaschen. Die Menge der an die Kunststoffoberfläche adsorbierten HRP-markierten Antikörper wurde durch die Absorption (bei 450 nm) des umgesetzten TMB Substrats (#. 34028, ThermoScientific, USA) nach Zugabe von Stopplösung indirekt bestimmt (PhotometerEL 808, Biotek, Deutschland).

Fazit

Die immunoGrade™-Oberfläche der soliden BRANDplates® zeigt im Vergleich zur high-binding Oberfläche der 96-well Platte eines anderen Anbieters eine deutlich erhöhte Affinität gegenüber AK (IgG). So ist es möglich den Verbrauch von Beschichtungs-AK deutlich zu reduzieren und Kosten zu sparen.