

ELISA

Puesto que el tema principal de esta edición de iBIO es la inmunología, en la primera publicación de ¿Cómo funciona? Hemos decidido abordar una técnica muy utilizada en esta área: la prueba de ELISA (Enzyme Linked Immunosorbant Assay).

Fue desarrollada por el investigador suizo Peter Perlmann y la investigadora Eva Engvall, de la Universidad de Estocolmo en 1971.

La prueba se basa en detectar antígenos (sustancias que pueden generar una respuesta inmune) o anticuerpos (proteínas producidas por el sistema inmune en presencia de un antígeno) inmovilizados sobre una fase sólida, la detección se genera de manera directa o indirectamente a través del uso de anticuerpos o antígenos marcados con una proteína que ayuda a que la

reacción ocurra con mayor rapidez llamada enzima la cual produce una coloración que puede ser medida de acuerdo a su intensidad.

De manera general, se puede decir que se lleva a cabo de la siguiente forma: primero se realiza la sensibilización del pozo con un antígeno o anticuerpo, después se realiza el bloqueo del pozo para evitar que queden espacios vacíos, se adiciona la muestra de interés, la cual se dejará reposar durante un momento para que la unión antígeno-anticuerpo se lleve a cabo, a continuación, se realizan lavados con algún buffer (sustancia que mantiene estable el pH de una solución) que contenga un detergente (como el Tween) para remover el exceso de anticuerpo o antígeno no unido.

Posteriormente se adiciona el anticuerpo secundario marcado con la enzima, se deja interactuar

durante un tiempo para permitir la unión del anticuerpo secundario al antígeno o anticuerpo y se realizan lavados para eliminar nuevamente el exceso de enzima no unida.

Finalmente, se adiciona el sustrato y se lee en un instrumento que permite medir la concentración de sustancias coloreadas por la cantidad de luz que absorben llamado fotolorímetro.

Actualmente existen diferentes pruebas de ELISA, algunas de ellas son: directas, indirectas, sándwich “DAS”, sándwich “HADAS” y competitivas. La diferencia radica en que las cuatro primeras utilizan anticuerpos marcados mientras que la ELISA competitiva utiliza antígenos marcados.

Esperamos que ésta breve descripción te haya ayudado a comprender un poco más de ésta técnica.

Por: Olivia Barrios Rojas

