

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung.....	1
1.1	Aufgabenstellung:	2
2	Fließinjektionsanalyse (FIA)	3
2.1	Prinzip der Fließinjektionsanalyse.....	3
3	Methoden der Immunanalytik	8
3.1	Antikörper	8
3.1.1	Antigen-Antikörper-Bindung.....	9
3.1.2	Spaltung der Antigen-Antikörper-Bindung	11
3.2	Off-line-Immuntests	12
3.2.1	ELISA-Test	13
3.2.2	Säulen-Tests	15
3.3	Automatisierte Immundetektionsverfahren	15
3.3.1	Homogener Immunassay	16
3.3.1.1	Turbidimetrischer Immunassay	16
3.3.1.2	Nephelometrischer Immunassay	18
3.3.1.3	Fluoreszenzenergietransferassay	18
3.3.1.4	Enzymimmunassay	19
3.3.2	Heterogener Immunassay	20
3.3.2.1	Kompetitiver Immunassay	20
3.3.2.2	Sandwich-Assay	24
3.3.2.3	Bindungsassays	25
3.4	Protein G und Protein A.....	28
3.5	Analysierte Produkte.....	29
3.5.1	Antithrombin III (AT III)	29
3.5.2	Gewebe-Plasminogen-Aktivator (t-PA)	31
4	Bestimmung von Phagen aus Escherichia coli-Zellen.....	34
4.1	Messung der Kulturfluoreszenz.....	34
4.2	Messung mit dem turbidimetrischen Immunassay.....	35
4.2.1	Aufbau der Meßanlage für den homogenen Immunassay.....	35
4.2.2	Messung von Phagenkonzentrationen.....	37
5	Heterogener Elutionsassay.....	39
5.1	Prinzip des Elutionsassays.....	39
5.1.1	Typische Peakformen	40
5.1.2	Vergleich mit einem kompetitiven Immunassay.....	41
5.2	Aufbau der Meßanlage für den heterogenen Elutionsassay.....	43
5.2.1	Anlagenkomponenten.....	44

5.2.2	Charakterisierung der Meßanlage	45
5.3	Charakterisierung der Antikörperkartusche	47
5.3.1	Immobilisierung der Antikörper	48
5.3.2	Variation der Trägermaterialien	49
5.3.3	Optimierung der Elutionsparameter	50
5.3.4	Kalibrierung der Anlage und Reproduzierbarkeit der Meßdaten	52
5.3.5	Langzeitstabilität	53
5.3.6	Veränderung des Volumenstroms	55
5.3.7	Gesamtbindungskapazität einer Kartusche	56
5.3.8	Störungen durch andere Proteine	60
5.3.9	Kumulativer Effekt	62
5.3.10	Zusammenfassung	63
5.4	Detektion der Proteine	64
5.4.1	Nachsäulenderivatisation mit Ortho-Phthaldialdehyd	65
6	Messungen von Proben aus Bioprozessen	69
6.1	Bestimmung von Antithrombin III	69
6.2	Bestimmung von rt-PA	71
7	Bestimmung von Immunglobulinen	76
7.1	Optimierung der Elutionsbedingungen	76
7.2	Messungen von Proben aus Bioprozessen	80
7.2.1	Bestimmung von anti-G 250	81
7.2.2	Bestimmung von anti-C4	82
7.2.3	Bestimmung von anti a-MAB	83
7.2.4	Bestimmung von IgM	86
7.2.5	On-line-Messungen	87
8	Zusammenfassung und Ausblick	91
9	Anhang	96
10	Literaturverzeichnis	102