

PC_01- CUANTIFICACIÓN MULTIPLEX DE HASTA 100 PROTEÍNAS POR MUESTRA EN PLACA ELISA DE 96 MUESTRAS MEDIANTE TECNOLOGÍA XMAP-LUMINEX

Plataformas Científico-Tecnológicas: Laboratorios de Investigación

Plataforma de Proteómica

Técnico de área: Sonia Morales Santana

www.ibsgranada.es



ibs.GRANADA
INSTITUTO DE
INVESTIGACIÓN
BIOSANITARIA

PC_01- Cuantificación multiplex de hasta 100 proteínas por muestra en placa ELISA de 96 muestras mediante tecnología Xmap-Luminex

1. Fundamentos del método y ventajas.

Los ensayos tradicionales de inmunoabsorción enzimática (ensayos ELISA) detectan y miden un único analito por placa. Los inmunoensayos basados en la tecnología xMAP de Luminex utilizan bolitas magnéticas rellenas con dos fluorocromos y están conjugadas con anticuerpos específicos que unen al analito de interés, que a su vez se une con anticuerpos biotinilados, detectables mediante estreptavidina conjugada con ficoeritrina, emitiendo señal fluorescente. Se pueden detectar teóricamente y simultáneamente hasta 100 proteínas por muestra en cada pocillo de placa ELISA (Figura 1).

- **Ventajas del método Luminex vs Elisa**

La tecnología luminex de alto rendimiento produce resultados comparables a los ensayos ELISA, pero con mayor eficacia, velocidad y rango dinámico. Los datos obtenidos son de mejor calidad, sin interferencias del muestreo, pipeteos, etc ya que todos los parámetros se ensayan en la misma muestra a la vez. La cuantificación del ensayo mediante fluorescencia y las incubaciones en suspensión con la muestra permiten mayor sensibilidad y rango dinámico que en el ELISA. En los ensayos ELISA la detección se lleva a cabo mediante reacción enzimática observada colorimétricamente. Además, el multiplexing necesita menor volumen de muestra, menor mano de obra, y es más económico por analito analizado. (Figura 2).

Existen paneles multiplex preconfigurados comercialmente disponibles. También se pueden seleccionar algunas proteínas de los paneles para crear ensayos multiplex personalizados.

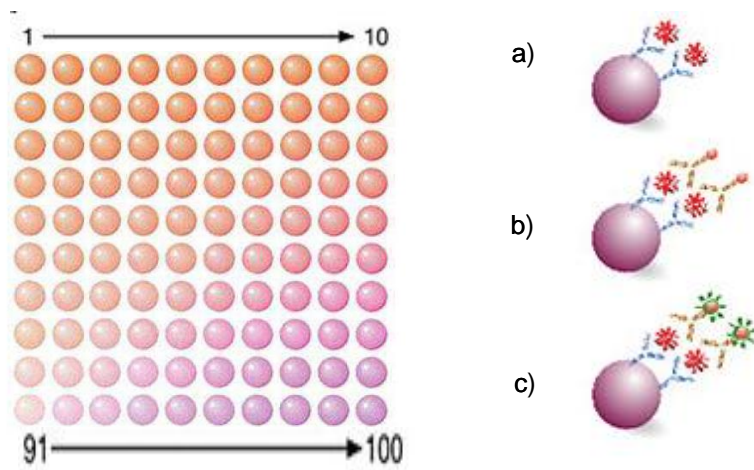


Fig 1. Tecnología de inmunoensayo multiplex Luminex. Las bolas están rellenas con dos diferentes fluorocromos (rojo e infrarrojo). Se utilizan diferentes concentraciones de cada fluorocromo para generar hasta 100 bolas distintas. El protocolo es equivalente a un ELISA tipo sandwich. a) Cada bola se conjuga a un anticuerpo contra un analito específico. b) Se realiza una segunda ronda de detección del analito con un anticuerpo específico biotinilado c) que es detectado a su vez con estreptavidina conjugada con el fluorocromo verde ficoeritrina. Un láser rojo identifica qué tipo de bola es – por la fluorescencia del relleno de la bola – y, por lo tanto, qué ensayo es (qué anticuerpo hemos unido a la bola). El láser verde cuantifica la cantidad de ficoeritrina unida a la bola, es decir, cuantifica cuánto analito hay detectado.

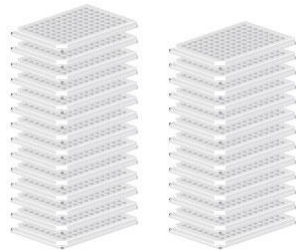

	ELISA	Bio-Plex
Número de analitos	27	27
Número de muestras	80 (16-20 pocillos son para la curva patrón, dependiendo del kit)	80 (16-20 pocillos son para la curva patrón, dependiendo del kit)
Número de placas de 96 pocillos necesarias	27 	1 
Datos obtenidos por placa	80	2.160
Tiempo requerido total	>60 hr	3 hr
Volumen de muestra	Suero o plasma >1 ml Sobrenadantes de cultivos celulares >1 ml	Suero o plasma 25 µl Sobrenadantes de cultivos celulares 25-50 µl

Fig 2. Protocolo de comparación entre ELISA tradicional y sistema Luminex en análisis de 27 analitos en 80 muestras.* Basado en 25 µl de muestra por pocillo

2. Servicio ofertado.

- a) Realización de ensayo Luminex.
- b) Análisis de resultados.

3. Equipos de análisis, software y muestras a analizar.

- **Equipo de Luminex y software:** Bio-Plex 200 (Bio-rad) y Xponent v3.1
- **Tipo de Muestra:** Suero, Plasma, sobrenadantes de cultivos celulares y otros fluidos biológicos.
- **Especies:** Humano, ratón, rata, primate, perro, felinos, equinos, porcinos.
- **Volumen requerido:** 25 μ l-50 μ l por muestra. Si requiere duplicados o triplicados, hay que entregar la muestra correspondiente.

4. Determinación del coste de realización.

Precios a convenir según kit seleccionado, número de analitos y muestras a ensayar.

5. Contacto:

- **Técnico Especialista Responsable Plataforma de Proteómica**
Dra. Sonia Morales Santana
Mail: smorales@ibsgranada.es / sonia.morales@juntadeandalucia.es
Teléfono: 958023655
- **Coordinadora Laboratorios de Investigación**
Dra. Paloma Muñoz de Rueda
Mail: palomalancha@ibsgranada.es
Teléfono: 958023980
- **Web:** <https://www.ibsgranada.es/plataformas/plataforma-de-genomica-y-proteomica/>
- **Solicitud de recurso:** <https://www.ibsgranada.es/solicitud-de-recursos-de-la-unidad-cientifico-tecnica-de-laboratorios-de-investigacion/>
- **Tarifas:** <https://www.ibsgranada.es/wp-content/uploads/2020/11/Lista-de-Tarifas-UCT-Lab-Investigacion-2022-v02.pdf>