

STANOVENÍ KONCENTRACE BÍLKOVINY V BIOLOGICKÉM MATERIÁLU S COOMASSIE BRILLIANT BLUE G-250

P. KOCNA, P. FRIČ, K. LOUCKÝ, J. SLABÝ

II. vědecké oddělení gastroenterologické, fakulta všeobecného lékařství
Karlovy University
Přednosta: doc. MUDr. P. Frič, DrSc.

Ústav termomechaniky Československé akademie věd, Praha
Ředitel: člen korespondent ČSAV M. Píchal

Interní oddělení Fakultní polikliniky, fakulta všeobecného lékařství
Karlovy University
Přednosta: doc. MUDr. P. Frič, DrSc.

■ *Souhrn: Metoda pro stanovení koncentrace bílkoviny s použitím Coomassie brilliant blue G-250 je založena na měření barevného komplexu barviva s bílkovinou. Výsledky dosažené touto metodou jsou srovnatelné s metodou Lowryho pro stanovení v moči, mozkomíšním moku, ascitech a tkáňových homogenátech ($r=0,941$). Proti metodě Lowryho je metoda s Coomassie brilliant blue jednodušší, rychlejší a citlivější.*

Tato práce podává dále matematické zpracování kalibrační křivky a srovnání s lineární závislostí, které lze použít v rozmezí 2,5 – 20 µg bílkoviny ve vzorku. Obecnější, nelineární závislost je použitelná do 50 – 60 µg bílkoviny. Výpočet kalibrační křivky a koncentrace bílkoviny z absorpční hodnoty byl naprogramován pro stolní kalkulačku Hewlett-Packard typ 9815 A.

■ *Klíčová slova: metoda – koncentrace bílkoviny – Coomassie – brilliant blue G-250 – metoda Lowryho*

V dosavadní klinické i laboratorní praxi se pro stanovení koncentrace bílkoviny používá klasické metody podle Lowryho s fenolovým Folinovým reagens (6), nebo metody s fluorescaminem a pro vyšší koncentrace běžné biuretové reakce (Rose 1833) nebo podle Extóna (9). V poslední době se objevila řada prací, které pro stanovení koncentrace bílkoviny využívají vznik barevných komplexů mezi barvivem a bílkovinou (3, 4, 10, 11). Všechny tyto práce používají Coomassie brilliant blue G-250 (CBB), která se používá pro barvení bílkoviny také na polyakrylamidových gelech po elektroforéze nebo izoelektrické fokusaci (1, 2, 12). Metodu s CBB používá také firma Pierce (7) v komerčním setu Microprotein Kit pro stanovení koncentrace bílkoviny v moči a mozkomíšní tekutině.

Tato práce se zabývá metodikou stanovení koncentrace bílkoviny pomocí CBB a korelací této metody s klasickou metodou Lowryho. Dále byl vypracován program pro výpočet kalibrační křivky a koncentrace bílkoviny na kalkulátoru Hewlett-Packard 9815 A.

Princip

Metoda je založena na měření koncentrace barevného komplexu barviva s bílkovinou. Coomassie brilliant blue G—250 je rozpuštěna v kyselině chloristé nebo kyselině chlorovodíkové. V kyselém prostředí je barvivo v oxidovaném stavu a má hnědooranžovou barvu s extinkčním maximem při 465 nm (obr. 1). Při vzniku komplexu s proteinem se barvivo redukuje a dochází ke konverzi hnědooranžové barvy na intenzivně modrou s extinkčním maximem při 595 nm (obr. 1). Koncentrace vzniklého komplexu je přímo úměrná koncentraci bílkoviny v roztoku.

Reagencie

Při stanovení koncentrace bílkoviny podle Sedmaka (10) je pracovním roztokem 0,6 g/l CBB v 0,6 mol/l v kyselině chlorovodíkové nebo ve 30 g/l kyselině chloristé. Po rozpuštění je nutno roztok zfiltrovat. Filtrát roztoku CBB se v průběhu 1 — 2 dnů barevně mění, čímž dochází k poklesu extinkce 465 nm. Doporučujeme proto v souladu s pracovním návodem firmy Pierce nechat pracovní roztok stabilizovat 3 dny při pokojové teplotě. Extinkce při 465 nm by se měla pohybovat v rozmezí 1,3 — 1,5. Takto připravený pracovní roztok je stabilní po dobu několika měsíců.

Pracovní postup

Provedení vlastního stanovení je velmi rychlé a jednoduché. Vzorek bílkoviny naředěný v 0,5 ml fyziologického roztoku smísíme s 0,5 ml CBB reagens — pracovním roztokem a promícháme jen otočením zkumavky, netřepeme! Po změření extinkce při 620 nm v 0,5 cm v kyvetě odečteme koncentraci bílkoviny z kalibrační křivky. Pro každý nový pracovní roztok je třeba připravit novou kalibrační křivku.

Pro ověření kalibrace doporučujeme s každou sadou vzorků zpracovat jeden standard.

Kalibrační křivka

Pro zhotovení kalibrační křivky si připravíme 2 g/l roztok lidského albuminu ve fyziologickém roztoku, který dále naředíme na koncentrace 0,05 — 2,00 g/l. Z takto naředěných roztoků pipetujeme 50 μ l, přidáme 0,45 ml fyziologického roztoku a pak smísíme s 0,5 ml CBB reagens. Naměřené extinkce při 620 nm vyneseme do grafu (obr. 2), kde na vodorovné ose je množství bílkoviny v jednotlivých vzorcích, tj. 2,5 — 50 μ g albuminu a na svislé ose odpovídající extinkční hodnoty.

Jako standard doporučujeme rozpipetovat 1,0 g/l roztok albuminu po 1 ml do malých zkumavek z plastické hmoty a uchovávat zmražené při -20°C .

Stabilita barevného komplexu a reprodukovatelnost výsledků

Barevný komplex barviva s bílkovinou je podle Sedmaka (10) stálý 60 — 90 minut. Roztok bílkoviny 2,0 g/l jsme smísili v poměru 1 : 1 s CBB reagens a 60 minut jsme kontinuálně měřili absorbancí při 620 nm ($d = 10$ mm; Unicam SP 800). Absorpční hodnota ($E = 1,16$) se během této doby nezměnila.

Reprodukovatelnost výsledků: V 15 vzorcích se stejnou koncentrací bílkoviny (0,5 g/l) byla provedena v duplikátu metoda s CBB. Extinkční hodnoty ($n = 30$) se pohybovaly v rozmezí 0,280 — 0,314 ($\bar{x} \pm \text{SD} = 0,304 \pm 0,078$) s variačním koeficientem $v = 3,56 \%$.

Srovnání kyseliny chlorovodíkové a kyseliny chloristé jako rozpouštědla CBB.

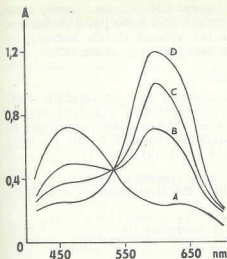


Fig. 1. Change in the absorption maximum of the Coomassie brilliant blue G-250 at the origin of protein dye complex. Albumin concentration in the sample: 0 — A (blank), 25 μg — B; 50 μg — C, 100 μg — D

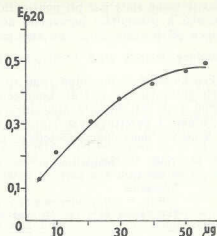


Fig. 2. The calibration curve expressing dependence of the extinction 620 nm on the concentration of human albumin in μg in determination by means of the Coomassie brilliant blue G-250

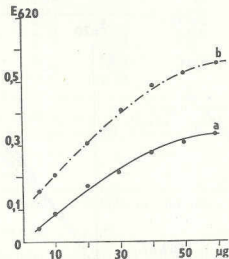


Fig. 3. Comparison of HCl [a] and HClO_4 [b] influences on the extinction 620 nm. The calibration curve of the standard serum Seronorm with the Coomassie brilliant blue G-250

Připravili jsme kalibrační křivky standardního séra (Seronorm; Immuno A.G.) s 0,6 g/l CBB rozpuštěné ve 30 g/l HClO_4 nebo 0,6 mol/l HCl (obr. 3).

Při použití HClO_4 jsme získali sice vyšší extinkční hodnoty, ale barevný komplex je méně stálý než při použití HCl . Opakovaně nám došlo ihned po smísení roztoků k precipitaci barevného komplexu, což výrazně snižuje hodnoty extinkce při 620 nm. Doporučujeme proto používat jako rozpustidla HCl .

Korelace metody CBB s metodou Lowryho:

Pro korelaci obou metod jsme zpracovali soubor dvaceti homogenátů střevních enterobiopsií, dvaceti homogenátů krysích pankreatů a dvaceti krysích ascitů (tab. 1). Rozdíly koncentrace bílkoviny zjištěné oběma metodami se v žádném z vyšetřovaných biologických materiálů významně nelišily ($p > 0,05$) a korelace mezi oběma metodami je výrazná ($r = 0,941$; obr. 4).

Table 1. Comparison of the method using Coomassie brilliant blue G-250 with the Lowry's method by using the homogenates of enterobiopsies

(EB; $n = 20$), pancreases (PA; $n = 20$) and in asciteses (AS; $n = 20$). The values of t-test [t] and correlation coefficient [r]

	Lowry ($\bar{x} \pm \text{SD}$)		CBB ($\bar{x} \pm \text{SD}$)		t	r
EB	7,66	3,37	7,33	3,39	0,286	0,931
PA	21,85	3,97	19,41	5,61	1,588	0,866
AS	30,08	8,87	32,65	7,07	0,961	0,831
Celý soubor	20,41	11,33	19,79	11,62	0,286	0,941

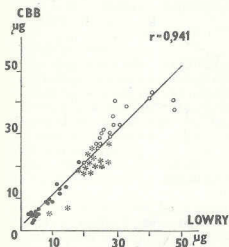


Fig. 4. Correlation of the method using Coomassie brilliant blue G-250 with the method according to Lowry. The protein 'n homogenates of pancreas *, enterobiopsies ● and asciteses ○. The curve: $y = 0,993x + 0,28$

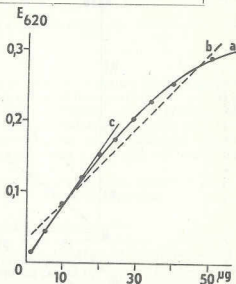


Fig. 5. Replacement of the calibration curve in the range from 2,5 to 50 μg of protein by the function $ax^x + bx + c$ [a] and by the linear dependence [b]. Linear dependence in the range from 20 μg [c]

Závislost extinkce y na koncentraci bílkoviny x lze vyjádřit grafem spojitě funkce tvaru:

$$y = ax^n + bx + c$$

Naměřeným hodnotám nejlépe odpovídají křivky, kde $n = 0,55 - 0,001x$. Určení konstant a , b , a c je pak závislé na pracovním roztoku CBB, přičemž tyto konstanty jsou vypočteny metodou nejmenších čtverců s posouzením směrodatné odchylky (8). Pro srovnání jsme kalibrační křivkou proložili křivku lineární regrese (obr. 5; tab. 2). I když směrodatná odchylka obou závislostí je srovnatelná (0,016 pro lineární a 0,006 pro nelineární), relativní odchylky od naměřených hodnot jsou pro lineární závislost podstatně větší. Korelace metody CBB s metodou Lowryho:

Table 2. Relation between the measured extinction volumes (MER) and the values obtained by construction of linear (LIN) and non linear (NEL) calibration curves. Calculated values are presented together with their relative deviations from the measured values

Albumin μg	MER	LIN	Δx	NEL	Δx
2,5	0,013	0,037	184,62%	0,012	-10,00%
5,0	0,040	0,051	27,50%	0,040	-1,50%
10,0	0,079	0,079	0,00%	0,083	4,56%
15,0	0,115	0,107	-6,96%	0,118	2,87%
20,0	0,158	0,135	-14,56%	0,148	-5,25%
25,0	0,175	0,163	-6,86%	0,178	1,83%
30,0	0,203	0,191	-5,91%	0,204	0,64%
35,0	0,225	0,219	-2,67%	0,229	1,64%
40,0	0,260	0,247	-5,00%	0,252	-3,27%
50,0	0,290	0,303	4,40%	0,293	1,17%
Typ křivky:	$y = 0,006x + 0,023$		$y = 0,27x^{(0,53-0,001x)} + 0,003x - 0,041$		
Směrodatná odchylka:	$s_{xy} = 0,016$		$s_{xy} = 0,006$		

V užším rozmezí koncentrace bílkoviny 2,5 — 20 μg bílkoviny ve vzorku (tj. 1,25 — 10 μg v měřeném mediu) lze užít lineární regresi vyjádřenou tvarem:

$$y = 0,008x - 0,004 \quad (\text{SD} = 0,03)$$

Hodnoty této křivky jsou s naměřenými hodnotami dobře srovnatelné (tab. 3). Stejnou zkušenost učinil Spector (11) v rozmezí 0,8 — 10 μg bílkoviny v roztoku.

Všechny výpočty byly provedeny na stolním kalkulátoru Hewlett-Packard 9815 A. Celý výpočet obstarávají dva programy.

První program provádí výpočet kalibrační křivky. Z vložených koncentrací a extinkcí vypočte konstanty a , b a c a uloží je do paměti. Pokud je matematické vyjádření závislosti dodáno výrobcem, nebo použijeme-li lineární závislost, není tohoto programu zapotřebí.



Table 3. The linear dependence of extinction 620 nm on the protein concentration in the range 2,5 — 20 μg of protein in a sample

Albumin μg	E_{620} naměřené	E_{620} vypočtené	ΔE
2,5	0,013	0,016	23,08%
5,0	0,040	0,037	-7,50%
10,0	0,079	0,077	-1,28%
15,0	0,115	0,117	1,74%
20,0	0,158	0,158	0,00%
Typ křivky:		$y = 0,008x - 0,004$	
Směrodatná odchylka:		$s_{xy} = 0,003$	

identifikace programu

KONCENTRACE
BILKOVINY
PODLE SEDMAKA

identifikace uložené
kalibrační křivky a
její případné změny

A,B,C
IN FILE 3?
YES(1), NO(0)
A 0,0567
B 0,0027
C -0,0185
YES (1), NO(0)

standarda 50 μg

ST.50 MMG

0,289

určení objemu vzorku (μl)

OBJEM VZORKU
BILKOVINY V MML

20,00

určení extinkce 620 nm

E 620 ?

0,481

tisk výsledků

KONC.(MMG)

41,188

KONC.(MG/ML)

0,824

Scheme. The example of calculation and printing of results
by means of the programable calculator HP 9815 A

Input data:

Druhý program počítá z dané extinkční hodnoty množství bílkoviny v μg , umožňuje přepočet na koncentraci v g/l , nebo na jiné jednotky a vytiskne výsledek v požadovaném tvaru (obr. 6), který může současně sloužit k dokumentaci.

Kalkulátor Hewlett-Packard 9815 A je vybaven rozsáhlou vnější pamětí na magnetické páse, takže kalibrační křivka jednou vypočtenou a uloženou v paměti lze kdykoliv znovu použít.

Diskuse

Stanovení koncentrace bílkoviny pomocí CBB spočívá na konverzi leuko-formy barviva na jeho intenzivně modrou barevnou formu. K tomuto procesu dochází při interakci s NH_4^+ skupinou bílkoviny (5). To znamená, že i tato metoda stejně jako metoda s fluoresceaminem nebo metoda Lowryho (6) je závislá na struktuře bílkoviny. Ve srovnání s uvedenými metodami je však tvorba komplexu CBB méně ovlivněna volnými aminokyselinami (10). Citlivost metody s CBB ($< 1 \mu\text{g}$; 10) je větší než u metody Lowryho. Bradford (3) poukazuje na interakci CBB s Tritonem X-100 a SDS, které značně zkreslují výsledek stanovení.

Z našich výsledků vyplývá v soulase s původní prací Sedmaka (10), že při použití HCl jako rozpouštědla jsou sice extinkce nižší, ale je vyšší stabilita barevného komplexu. Bradford (3) a Spector (11) používají pro rozpuštění CBB etanol a kyselinu fosforečnou. Extinkční hodnoty při 595 nm jsou sice o 20 % vyšší, ale při použití těchto rozpouštědel klesá stálost pracovního roztoku. Sedmak (10) dále upozorňuje na skutečnost, že absorpční maxima CBB z různých zdrojů se liší. Doporučujeme proto pro přesné měření ověřit absorpční maximum použitého barviva.

Kalibrační křivka není podle našich měření lineární, avšak v rozmezí koncentrace 2,5 — 20 μg bílkoviny ve vzorku je její průběh linearity velmi blízký (S_{xy} je 0,003). Všechny práce, které uvádějí lineární závislost mezi koncentrací a extinkcí (3, 7, 11) jsou založeny na nízkých koncentracích bílkoviny ve vzorku. Bradford (3) doporučuje rozmezí 0,8 — 10 μg . Funkce $y = ax^n + bx + c$ (S_{xy} je 0,006), kterou jsme pro tuto metodu odvodili, je použitelná až do 60 μg bílkoviny ve vzorku. Nad 60 μg je měření již zatíženo velkou chybou. Při použití přístroje VSU — 2 (Zeiss, Jena) jsme jako horní hranici měřitelnosti zvolili změnu $\Delta E/10 \mu\text{g} = 0,025$, což odpovídá 60 — 70 μg bílkoviny podle pracovního roztoku CBB.

Reprodukovatelnost výsledků ($v = 3,56 \%$) a korelace s metodou Lowryho je velmi dobrá pro biologický materiál různého původu ($r = 0,941$). Těsná závislost obou metod je charakterizována vztahem $y = 0,993x + 0,28$ (μg). Srovnatelnou závislost uvádí i firma Pierce (7) pro stanovení v moči a mozkomíšní tekutině ($y = 0,917x + 2,52$; $\text{mg } \%$). Naměřené hodnoty se na 1% hladině významnosti neliší.

LITERATURA

1. BERTOLINI, M. J., TANKERSLEY, D. L., SCHROEDER, D. D.: Staining and destaining polyacrylamide gels: A comparison of Coomassie blue and Fast green protein dyes. *Analyt. Biochem.* 71, 1976, s. 6 — 13.
2. BLAKESLEY, R. W., BOEZI, J. A.: A new staining technique for proteins in polyacrylamide gels using Coomassie Brilliant Blue G-250. *Analyt. Biochem.* 82, 1977, s. 580 — 582.
3. BRADFORD, M. M.: A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing

the principle of protein dye binding. *Analyt. Biochem.* 72, 1976, s. 248 — 254. — 4. CAWOOD, A. H., POTTER, J., DICKINSON, M. G.: An evaluation of Coomassie brilliant blue as stain for quantitative microdensitometry of protein in section. *J. Histochem Cytochem.* 26, 1978, s. 645 — 650. — 5. FAZEKAS DE ST. GROTH, S., WEBSTER, R. G., DATYNER, A.: Two new procedure for quantitative estimation of proteins on electrophoretic strips. *Biochim. Biophys. Acta* 71, 1973, s. 377 — 391. — 6. LOWRY, O. H., ROSEBROUGH, N. J., FARR, A. L., RANDALL, R. J.: Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* 193, 1951, s. 265 — 275. — 7. Microprotein Rapid Stat Kit for the quantitative colorimetric determination of total protein in cerebrospinal fluid, urine and other biologic fluids. Instructions fy Pierce № 45700, 1979. — 8. Příručka měřicí techniky pro strojírenství a energetiku. Praha, SNTL 1965, s. 928. — 9. Real Lexikon der Medizin, Urban & Schwarzenberg. München 1966, s. P 206, E 274. — 10. SEDMAK, J. J., GROSSBERG, S. E.: A rapid sensitive and versatile assay for protein using Coomassie brilliant blue G-250. *Analyt. Biochem.* 79, 1977, s. 544 — 552. — 11. SPECTOR, T.: Refinement of the Coomassie blue method of protein quantitation. A simple and linear spectrophotometric assay for $\leq 0,5$ to $50 \mu\text{g}$ of protein. *Analyt. Biochem.* 86, 1978, s. 142 — 146. — 12. WILSON, C. M.: Studies and critique of amido black 10 B, Coomassie blue R and Fast green FCF as stain for proteins after polyacrylamide gel electrophoresis. *Analyt. Biochem.* 96, 1978, s. 263 — 278.

Do redakcie došlo: 15. I. 1981

Adresa autora: P. K., Vědecké odd. gastroenter., FVL UK,
121 11 Praha 2, Karlovo nám. 32

П. Коцна, П. Фрич, К. Лоуцки, Я. Слабы

ОПРЕДЕЛЕНИЕ КОНЦЕНТРАЦИИ БЕЛКА В БИОЛОГИЧЕСКОМ
МАТЕРИАЛЕ С СО MASSIE BRILLIANT BLUE G-250

Резюме

Метод определения концентрации белка при помощи Коомассие бриллиант блюе Г — 250 (КББ) основана на измерении цветного комплекса КББ с белком. При определении концентрации белка в моче, мозговой жидкости, асцитех и тканевых гомогенатах результаты являют хорошую корреляцию с методом Ловрыго ($r = 0,941$). По сравнению с методом Ловрыго является метод с КББ чувствительнейший, быстрейший и простой.

В этой работе разработан далее математический отзыв кривой калибрации и ее соотношение к линейной зависимости, которое можно использовать в пределах с 2,5 до 20 микрограммов белка в пробе. Нелинейная зависимость использованная до 60 микрограммов белка. Для вычисления кривой калибрации и концентрации белка из величины абсорбации мы разработали программу при помощи вычислительной машины Говлет-Пакард 9815 А.

P. Kocna, P. Frič, K. Loucký, J. Slabý

DETERMINATION OF THE PROTEIN CONCENTRATION IN BIOLOGICAL
MATERIAL BY THE COOMASSIE BRILIANT BLUE G-250

Summary

The method of protein estimation is based on photometrical measurement of a colour complex formed by Coomassie Brilliant Blue with protein. For estimation in urine, cerebrospinal fluid, ascites and homogenized tissues are the results achieved with this method comparable with the method according to Lowry. In addition is this method simpler, quicker and more sensitive.

This paper showses further mathematical expression of the calibration curve and its linear regression, which may be used in the range $2.5 - 20 \mu\text{g}$ protein probabon sample. For a wider range up to $60 \mu\text{g}$ protein a non-linear regresion must be used. The use of a programable calculator Hewlett-Packard 9815 A for the calculation both the calibration curve and the protein concentration from the absorbance is advantageous.

Zusammenfassung

Die Methode zur Bestimmung der Eiweisstoffkonzentration mittels Comassie Brilliant Blue G—250 basiert auf die Einstellung des Farbkomplexes des Farbstoffes mit dem Eiweiss. Die mit dieser Methode erzielten Ergebnisse sind vergleichbar mit der Methode von Lowry zur Bestimmung von Eiweiss im Harn, in der Cerebrospinalflüssigkeit, im Aszites und in Gewebhomogenaten ($r=0,941$). Im Gegensatz zur Lowry Methode ist die Comassie Brilliant Blue Methode einfacher, schneller und empfindlicher.

Diese Arbeit gibt weiters mathematische Bearbeitung der Kalibrationskurve mit einem Vergleich der linearen Abhängigkeit, welche im Bereich von 2,5—20 μg Eiweiss in der Probe verwendet werden kann. Allgemeiner, die nichtlineare Abhängigkeit ist bis zu 50—60 μg Eiweisstoff verwendbar. Die Berechnung der Kalibrationskurve und der Eiweisstoffkonzentration aus den Absorptionswerten wurde für den Tischrechner Hewlett-Packard Typ 9815 A programmiert.

KONDUKTOMETRICKÁ TITRÁCIA ŽALÚDOČNEJ ŠŤAVY

Autori navrhujú nový spôsob indikácie ekvivalentného bodu pri stanovení HCl v žalúdočnej šťave — konduktometrickú indikáciu. Tento spôsob dáva správnejšie výsledky ako potenciometrická indikácia, na ktorú vplývajú aj slabé kyseliny a soli prítomné v žalúdočnej šťave. Ako titračné činidlo používajú 0,1 mol/l NH_4OH . Žalúdočnú šťavu získavajú štandardným postupom ráno nalačno a po stimulácii penta-gastrínom v dávke 6 $\mu\text{g/kg}$. Pred titráciou sa žalúdočná šťava riedi 50-krát destilovanou vodou. Na štandardizáciu, ako aj overenie správnosti titrácie autori použili buď čistú 0,1 mol/l HCl alebo s prídavkom kyseliny octovej, resp. Na_3PO_4 . Navrhovanú metódu taktiež porovnávali s výpočtovou metódou, kde sa koncentrácia vodíkových iónov vypočítava zo zmeraného pH pomocou tabelovaných aktivitných koeficientov, a zistili veľmi tesnú koreláciu ($r = 0,95$). Správnosť metód závisí od koncentrácie HCl. Ak je táto vyššia ako 25 mmol/l, dáva správnejšie výsledky konduktometrická titrácia. Pri nižšej koncentrácii dáva správnejšie výsledky výpočtová metóda cez pH. Záverom autori konštatujú, že metóda konduktometrickej titrácie je jednoduchá a správna a mala by sa stať metódou voľby pri stanovení HCl v žalúdočnej šťave.

Van Zanten, A. P., and van den Ende, A.: Conductometric Titration of Hydrochloric Acid in Gastric Juice. Clin. Chem. 26, 1895 — 1897, 1980. J. Volmut

NOVÁ TECHNIKA PRE BIOCHEMICKÚ ANALÝZU

V NDR v Jene vznikla nová inštrumentálna technika pre biochemickú analýzu. Nazýva sa KAPA, čo je skratka názvu Kammer — Papier — Analyse. KAPA technika je mechanizovaný mikroanalytický systém zvlášť vhodný pre enzýmovú analýzu vo výskume, v klinickej chémii a v toxikológii. Celkový objem testu sa pohybuje medzi 5 — 80 μl . Spotreba reagensii je len 0,5 — 5,0 % zo spotreby konvenčnými testmi. Paralelne možno vykonať až 50 stanovení. Denný výkon môže byť podľa typu analýzy až niekoľko stoviek vyšetrení. Technika má tri varianty. Prvá slúži na screening, kvalitatívne, resp. semikvantitatívne vyšetrenia a vyžaduje minimálne vybavenie. Druhá