

1.1 Bei welchen Untersuchungen dient ein Antikörper, bei welchen ein Antigen als Analyt? Nennen Sie Beispiele!

AK als Analyt: Nachweis einer Infektion durch Nachweis der spezifischen AK im Blut. z.B. HIV-Test, Hepatitis C, Sars CoV-2

Ag als Analyt: Quantifizierung von Hormonen, Arzneistoffen und Pathogenen (z.B. Viruspartikel)

2.1.1 Ordnen Sie in Abb. 2.1.1 Kurve A und Kurve B die Begriffe Fluoreszenzspektrum und Absorptionsspektrum begründet zu

Antwort (sinngemäß): Das abgegebene Fluoreszenzlicht ist immer energieärmer, also langwelliger, als das absorbierte Licht (STOKESches Gesetz, vgl. 2. Lehrjahr!). Hintergrund: Das angeregte Molekül kann sich bis zu einem gewissen Grad strahlungslos desaktivieren kann. Es verliert so einen Teil der Anregungsenergie als Wärme. Erst ab einem bestimmten Energieniveau kann es das dann nicht mehr. Zur weiteren Desaktivierung wird dann Fluoreszenz-Licht abgestrahlt $\Rightarrow$ Abgestrahlten EM-Wellen (Fluoreszenz!) sind deshalb energieärmer absorbierte Anregungs-EM-Wellen.

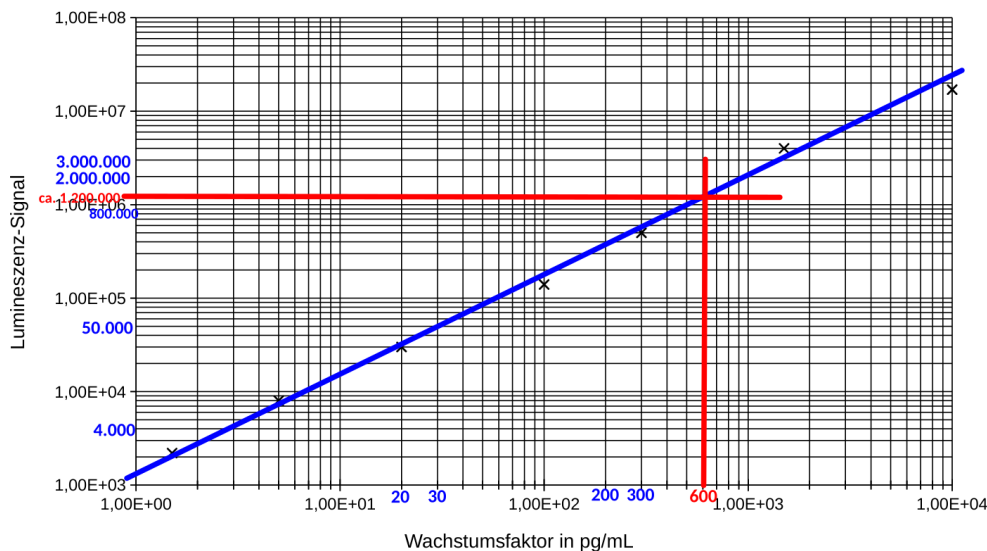
$\Rightarrow$ Kurve A ist also das Absorptionsspektrum.

$\Rightarrow$ Kurve B ist das Fluoreszenzspektrum.

Häufig liegen die Anregungswellenlängen im unsichtbaren UV-Bereich, das Fluoreszenzlicht dann im sichtbaren Bereich.

2.2.1 Zu Abb. 2.2.1: Eine Probe zeigt unter denselben Bedingungen wie die Kalibrierlösungen ein Lumineszenz-Signal von 1200000 Einheiten. Geben Sie den Gehalt des Wachstumsfaktors β (Wachstumsfaktor) in $\mu\text{g/L}$ an!

ACHTUNG. RICHTIG ABLESEN. DIE SKALIERUNG ÄNDERT SICH AUF LOGARITHMISCHEN ACHSEN. Zur Übung habe ich einige Zahlenwerte jeweils angegeben.



ca. 600 pg/mL (=600 ng/L = 0,6 $\mu\text{g/L}$)

2.2.2 Reaktionsgleichung formulieren: $\text{R-OPO}_3^{2-} + \text{OH}^- \rightarrow \text{R-OH} + \text{PO}_4^{3-}$

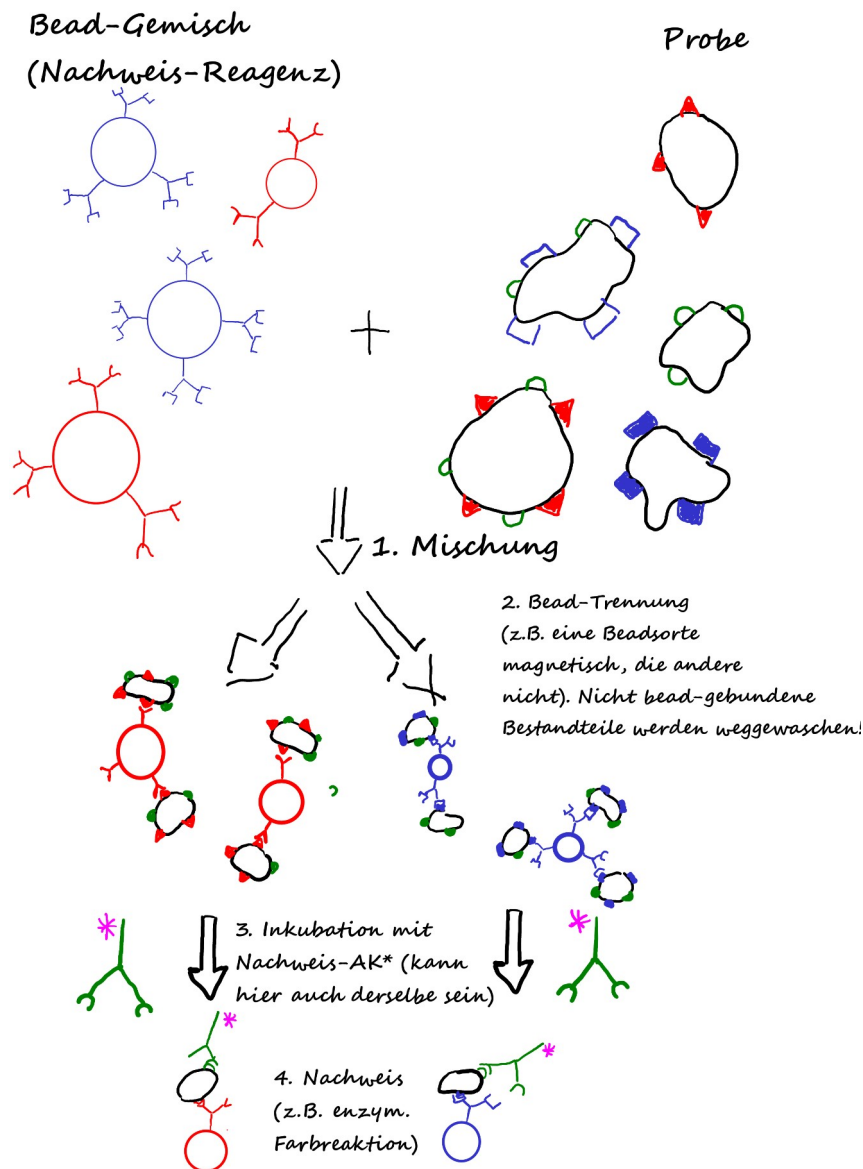
3.1 Nennen Sie die größten Vorteile beim Arbeiten mit Mikrotiterplatten?

* mehrere Proben/Analysen gleichzeitig durchführbar. $\Rightarrow$ Bessere Vergleichbarkeit der Proben untereinander durch Gleichbehandlung.

** nur kleine Volumina nötig $\Rightarrow$ Reagenzieneinsparung*

** Messung mit speziellen Fotometer (ELISA-Reader). $\Rightarrow$ Keine Küvette nötig.*

3.2 [mit Lehrkraft entwickeln]: Schema eines Particle Immunassays mit Multiplex-Fähigkeit und Bead-Trennung.



3.3 Beschriften und diskutieren Sie folgende Abbildung eines Fluoreszenz-Particleimmunoassays (FPIA). Diskussionspunkte: Welche Markierungart? Weshalb mehrere Bead-Arten? Wie sind sie belegt? Weshalb?

3.4 HIV-Tests der jüngeren Generationen sind häufig Chemoluminescent particle immunoassays. Erläutern Sie die Bestandteile eines solchen Testsystems.

- Beads (Nr. 1) , die mit Ag belegt sind, die für HIV-1 charakteristisch sind.
- Beads (Nr. 2), mit Ag belegt sind, die für HIV-2 charakteristisch sind.
- Beads (Nr. 3), die mit AK belegt sind, die spezifisch p24-Ag binden.

Weiterhin:

- Sekundär-AK jeweils mit Enzym markiert (anti-IgG*). ⇒ Falls in Probe HIV-AKs vorhanden sind, die an Nr. 1 und Nr. 2 binden, werden diese Bindung dann Sekundär-AK nachgewiesen, die an HIV-AK binden.
- Markierter AK, der an p24-Ag bindet (anti-p24*) ⇒ Falls HI-Viren an Bead Nr. 3 binden, wird diese Bindung nachgewiesen, in dem ein markierter AK (z.B. monoklonal) angehängt wird.
- Substrat, das zur Chemolumineszenz führt.

Die Beads werden einzeln am Detektor vorbeigeführt oder die Beadsorten voneinander getrennt. In beiden Fällen erfolgt die Detektion und Auswertung für jede Bead-Art getrennt. Es wird für jede Bead-Art das Markersignal gemessen

3.5 Bei HIV-Test kann es in Einzelfällen zu einer zweiten diagnostischen Lücke kommen. Schließen Sie aus den Informationen was hiermit gemeint ist und für was die erste diagnostische Lücke steht.

In der ca. 10 - 12 Woche kann die Infektion erneut nicht nachweisbar sein, obwohl sie davor schon nachweisbar war.

- 1. diagnostische Lücke: Die ersten 6-8 Wochen
- danach haben sich die Viren so stark vermehrt, dass sie über die p24-Ag nachweisbar sind.
- 2. diagnostische Lücke: Übergang der Viren in die latente Phase, freie Virus-Konz. nimmt wieder ab. AK-Produktion noch zu gering, um nachgewiesen zu werden.

4.1 In einem Lehrbuch steht: "Je schwächer das detektierte Signal bei einem kompetitiven Immunassay, desto höher die Analytkonzentration." Erklären Sie die scheinbar widersprüchliche Aussage.

Je geringer die Analyt-Konzentrationen desto mehr markierte Reagenz kann an den Analyt binden.