

## 4.2 verwendet die am weitesten verbreitete Methode für virale Diagnose.

Herzlich willkommen. In mehrere serologische Verfahren kann die Menge an Antikörpern quantifiziert werden schneller als in der viralen Neutralisation Test wir im vorherigen Video sahen, obwohl wir die schützende Wirkung haben sie nicht beurteilen können. Diese Techniken haben gemeinsam, dass eine der beiden Reagenzien, das Antigen oder, häufiger, der Antikörper mit einem Molekül, das fluoreszierende sein kann, ein radioaktives Isotop, Heavy Metal oder ein Enzym gekennzeichnet sind. Abhängig von der Marker werden sie in irgendeiner Weise genannt, obwohl das Prinzip immer das gleiche. In diesem Video sehen wir die Tests, die Enzyme als Marker, insbesondere eine sogenannte ELISA, und glaube nicht, dass es ist, weil jemand mit diesem Namen erfunden.

In allen Tests, die Markierungen verwenden, zuerst müssen wir adsorbieren oder eine Oberfläche, die ihnen, genannt Festphase, enthält Antikörper oder Antigene binden und der Prozess der Adsorption oder Fixierung nennt man "Beschichtung". Im Falle der ELISA können die Festphase Polystyrol Platte, in der Regel 96 Flachboden Wells hat. Nachdem beschichtet und die Brunnen gewaschen, wird die Probe getestet werden in zwei Urschriften, d. h. in zwei Brunnen hinzugefügt. Die Probe kann virale Antigen sein, wenn die Platte mit Antikörpern oder Serum beschichtet ist, wenn es mit virale Antigen beschichtet ist. Wir inkubieren bei der entsprechenden Temperatur zugunsten der union Antigen-Antikörper, in der Regel bei 37 ° c Wir waschen vorsichtig, aber gründlich, um die Reagenzien zu entfernen, die nicht an die Festphase aufbewahrt werden. Wir fügen hinzu, Reagenzien, Inkubation und waschen so oft wie erforderlich durch das Protokoll jeder bestimmten Typs von ELISA. Das vorletzte Reagenz ist in der Regel die "konjugiert", die Antikörper gebunden mit einem Enzym; Das bedeutet dass, sie "gekennzeichnet sind". Nachdem eine weitere Inkubation und waschen fügen wir das Substrat des Enzyms.

Die am häufigsten verwendeten Enzyme sind Peroxidase, alkalische Phosphatase und Luciferase. In allen Fällen wird es eine farbige oder ungefärbte Reaktion hervorrufen, deren Intensität von der Menge des Enzyms in den Brunnen vorhanden hängt. Wir beziffern diese Intensität mit dem entsprechenden Instrument.

Wie immer, dürfen wir nicht vergessen, um positive und negative Kontrollen umfassen. Mal sehen, einige Arten von ELISA.

### Indirekte ELISA

Im indirekten ELISA beschichten wir den Brunnen mit Antigen, fügen wir das Testserum, d. h. Probe und das Konjugat die Antikörper Anti-Immunglobulinen der gleichen Art wie die Probe mit dem Enzym markiert in diesem Fall sind. Dieser Antikörper wird als sekundäre Antikörper bezeichnet. Sie wissen, dass Sie brüten und zwischen den einzelnen Schritten waschen. Gibt es spezifische Antikörper, wird Farbe durch Zugabe des Substrates des Enzyms entwickeln.

### Wettbewerbsfähige ELISA

Wettbewerbsfähige ELISA ist ein ELISA-Technik, die sich Antikörper oder Antigene erkennen lässt. Ersten Mal sehen, wie es gemacht wird, um Antikörper zu quantifizieren. Der erste Schritt ist das Problem-Serum, eine konstante Menge des Virus, das Antigen ist hinzuzufügen. Nach der Inkubation, wird die Mischung in die Vertiefungen, die mit Antikörpern beschichtet hinzugefügt. Gäbe es viele Antikörper in der Probe werden wenig kostenlose Virus für die Bindung der Antikörper in den Brunnen. Der letzte Schritt ist das Hinzufügen einer Anti-Virus-Konjugat, und natürlich das Substrat des Enzyms. Im Falle einer positiven Probe mit hoher Titer werden wenig Farbe Signal in der Probe gut. Deshalb heißt es wettbewerbsfähig.

Wir konnten auch diesen Test auf eine andere Weise tun, Beschichtung mit dem Antigen statt mit Antikörpern. In diesem Fall würden wir das Probe-Serum und ein Enzym-markierten Anti-Virus-Konjugat gleichzeitig hinzufügen. Beide Arten von Antikörpern konkurrieren für die Bindung des Virus, also, wenn der Titer das Testserum hoch ist, gibt es keinen Platz für das Konjugat und nach dem Waschen und Zugabe des Substrates wird nicht Entwicklung Farbe, oder wird dies sehr Verhalten wie wir in diesem Bild sehen können.

Ich bin sicher, dass Sie jetzt wissen, wie die entsprechenden Änderungen an virale Antigen statt Serum-Antikörper erkennen.

### **Sandwich-ELISA**

Die letzte Art von ELISA, die wir sprechen ist Sandwich ELISA. Die Brunnen sind mit Antikörpern überzogen und die Probe ist das Problem-Virus. Wenn es mit den Antikörpern entspricht, bleibt er an den Brunnen. Es wird durch ein Anti-Virus-Konjugat erkannt: desto mehr Farbe in den Vertiefungen, die mehr Virus gibt.

Bevor wir dieses Video fertig, ist es bequem für Sie zu wissen, dass gibt es Systeme, die geimpfte Tiere von infizierten Tieren zu unterscheiden können, das ist sehr wichtig in der Veterinärmedizin. Um dies zu tun, der Impfstoff muss so gestaltet sein, dass es nicht die virale Antigene, enthält aber natürlich muss es diejenigen, die eine neutralisierende Reaktion zu stimulieren, die wir im vorherigen Video sahen enthalten. Diese Systeme werden als DIVA bezeichnet, und wir beschäftigen zwei verschiedene Arten von ELISA. Stoppen Sie das Video um zu sehen, ihre Begründung.

Vielen Dank für Ihre Aufmerksamkeit!