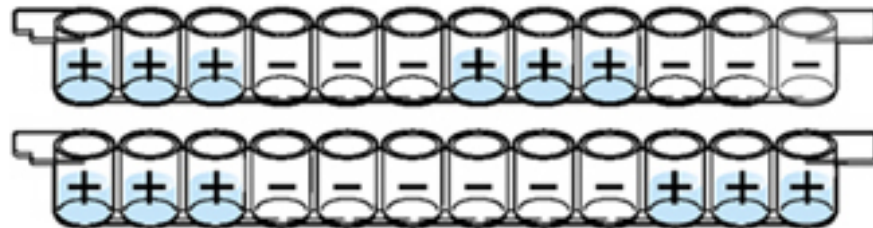
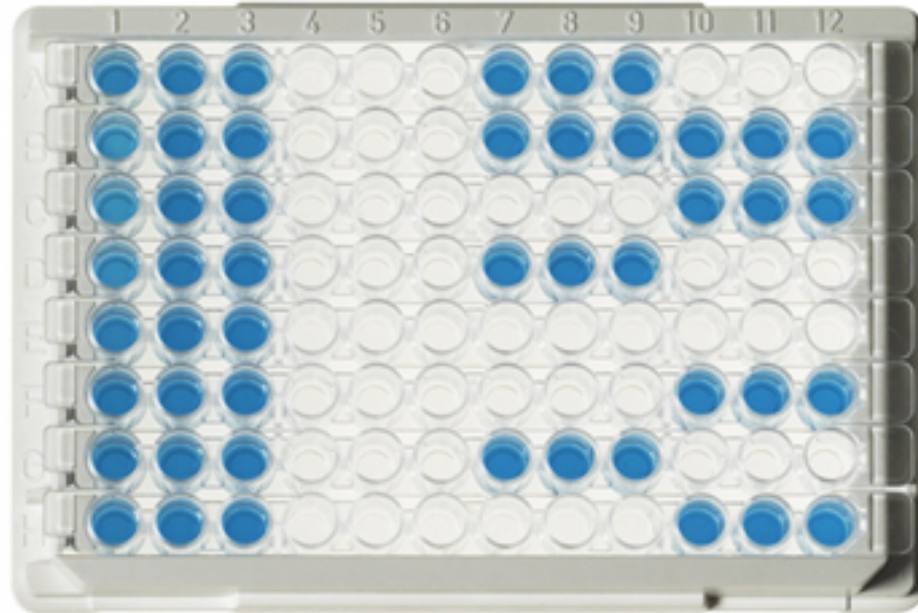


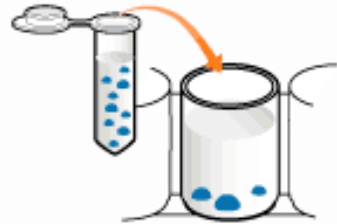
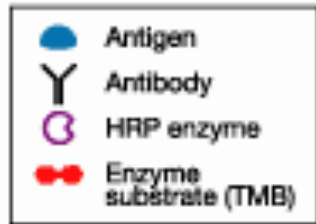
ELISA Kit

Test per
determinare in
modo chiaro un
risultato positivo
o negativo di
reazione antigene-
anticorpo

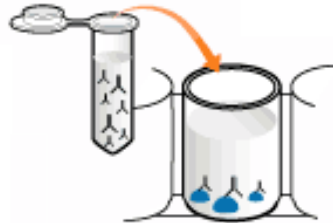


ELISA

Procedura



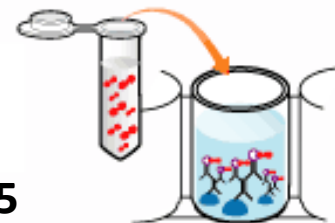
1) Aggiungere antigene purificato ai pozzetti. Incubare per 5 min.



2) Aggiungere il siero con gli eventuali anticorpi I (campioni degli studenti) nei pozzetti. Incubare per 5 min.



3) Aggiungere l'anticorpo II (contro l'anticorpo I) legato all'enzima "perossidasi". Incubare per 5 min.



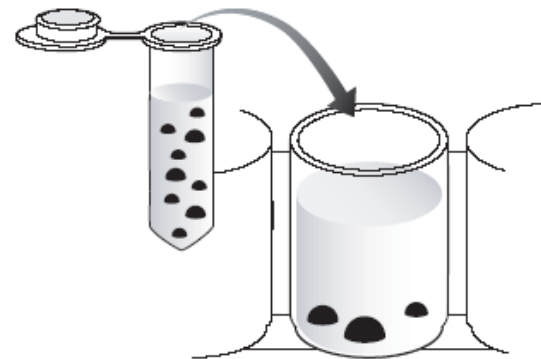
4) Aggiungere il substrato dell'enzima.. Incubare per 5 min.

Microplate Strips



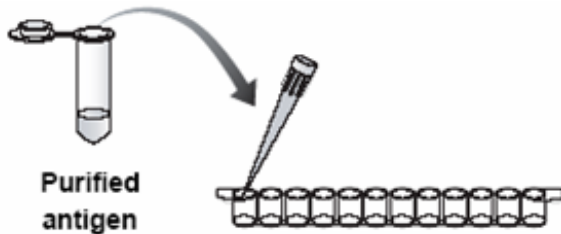
- Microplate strips sono fatte di **polistirene**

- **Le catene idrofobiche** degli amminoacidi si legano alle pareti di polistirene dei pozzetti



Step One

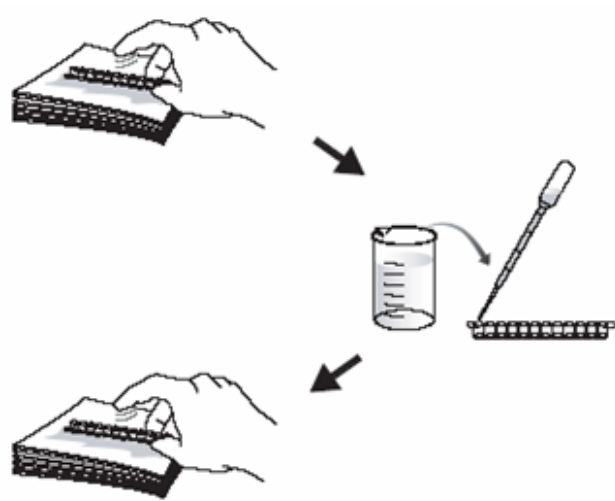
Etichettare i pozzetti e aggiungere l'antigene



- Etichettare i **12 pozzetti dello** strip:
 - I primi tre: **controllo “+”**
 - I successivi tre: **controllo negativo “-”**
 - I pozzetti rimanenti servono per i campioni da testare
- Usare un nuovo puntale per aggiungere **50µl** di antigene puro (AG) dentro i 12 pozzetti
- Aspettare **5 minuti** per far legare l'antigene

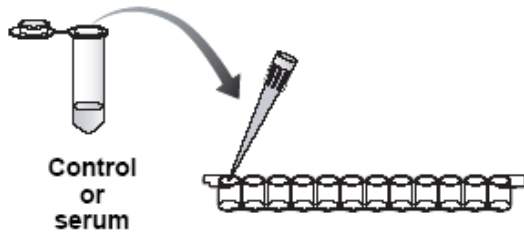
Step 2

Lavaggio



- **Rimuovere i campioni** dai pozzetti capovolgendo lo strip su carta
- Usare le pipette di plastica per i lavaggi con **wash buffer**
- **Rimuovere il wash buffer** dai pozzetti capovolgendo lo strip su carta
- **Ripetere il lavaggio**

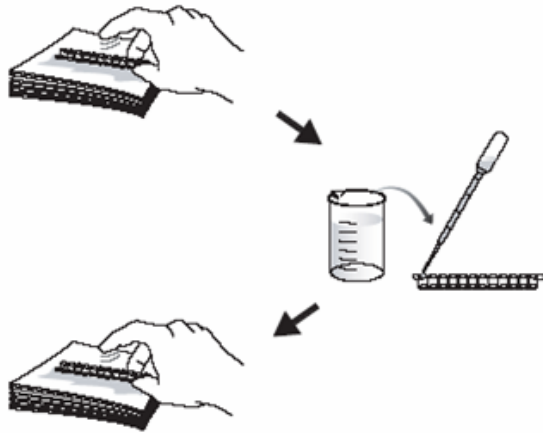
Step 3



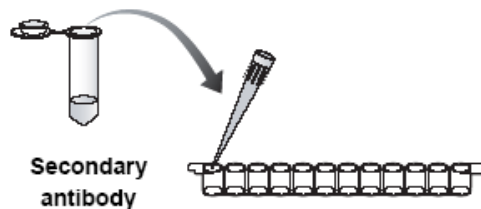
- Aggiungere **50 μ l** di **controllo +**
- Aggiungere **50 μ l** di **controllo -**
- Aggiungere **50 μ l** di campione **A**
(campione dello studente)
- Aggiungere **50 μ l** di campione **B**
(campione dello studente)
- Aggiungere **50 μ l** di campione **C**
(campione dello studente)
- I campioni devono essere lasciati a reagire nei pozzetti per **5 minuti**.

Step 4

Lavare i pozzetti e aggiungere l'enzima legato all'anticorpo II

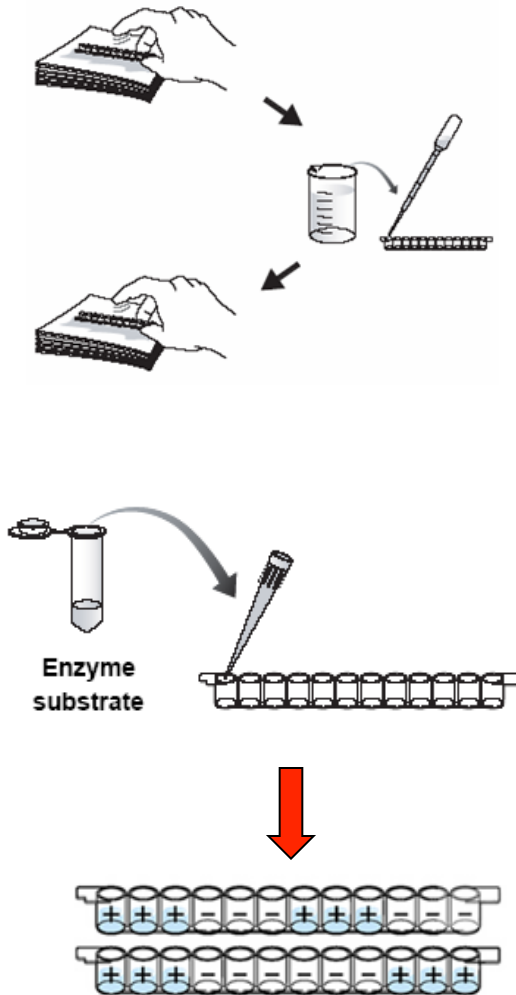


- Lavare 2 volte i pozzetti
- Aggiungere **50 μ l** enzima-legato all'anticorpo II in ogni pozzetto
- Aspettare **5 minuti**



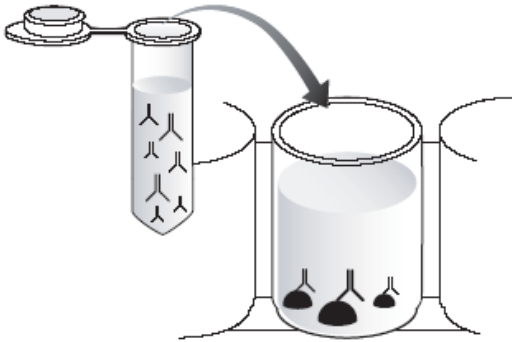
Step 5

Aggiungere il substrato dell'enzima



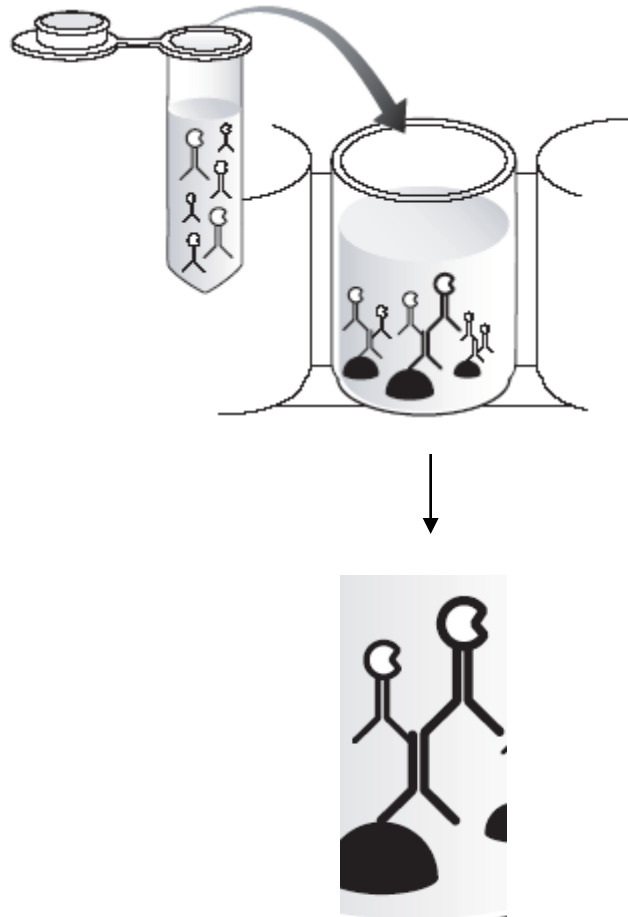
- Lavare 3X
- Aggiungere 50µl del substrato dell'enzima a ciascun pozzetto
- Aspettare 5 minuti
- i campioni + inizieranno a diventare blu

Wash Buffer

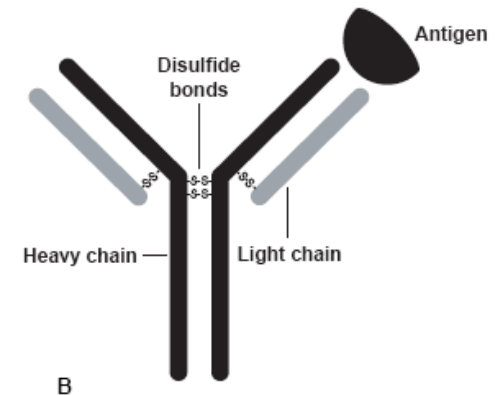
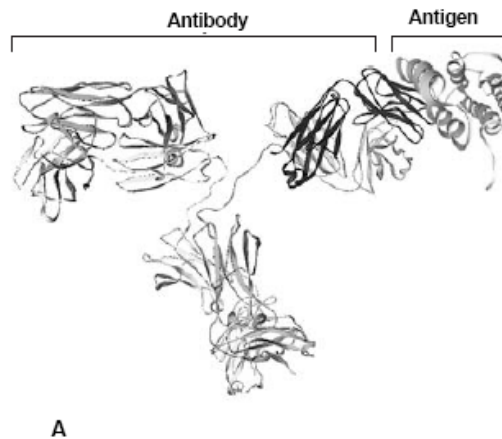


- Il wash buffer contiene **tampone fosfato (PBS)** per mantenere gli **anticorpi nella struttura terziaria corretta**
- Contiene inoltre **Tween 20**: un detergente non ionico che rimuove i legami aspecifici e agisce come agente bloccante della riduzione del substrato

Specificità dell'anticorpo

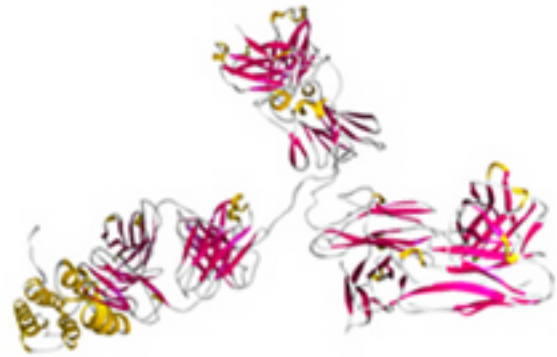


- **Gli anticorpi II** riconoscono specificamente la regione costante dell'anticorpo I.



ELISA-HIV Test

Detecting Antibodies in Serum



- After **4-8 weeks** of exposure to the HIV virus, the body will have produced a detectable level **antibodies** (immune response) **against HIV**
- **ELISA** (HIV-Test) detects the presence of **serum antibodies against HIV protein antigens**
- This is how HIV is detected in clinical laboratories
- **Most common AIDS test**

Bio-Rad HIV Clinical Diagnostic Kits

HIV can be detected by **ELISA** or **western blot** technology. (Both of which are developed using the basis of the mammalian immune system) **ELISA** tests are **very quick**. **Western Blot** tests are **slower** and more **expensive** and are used for **confirmatory tests**.

