

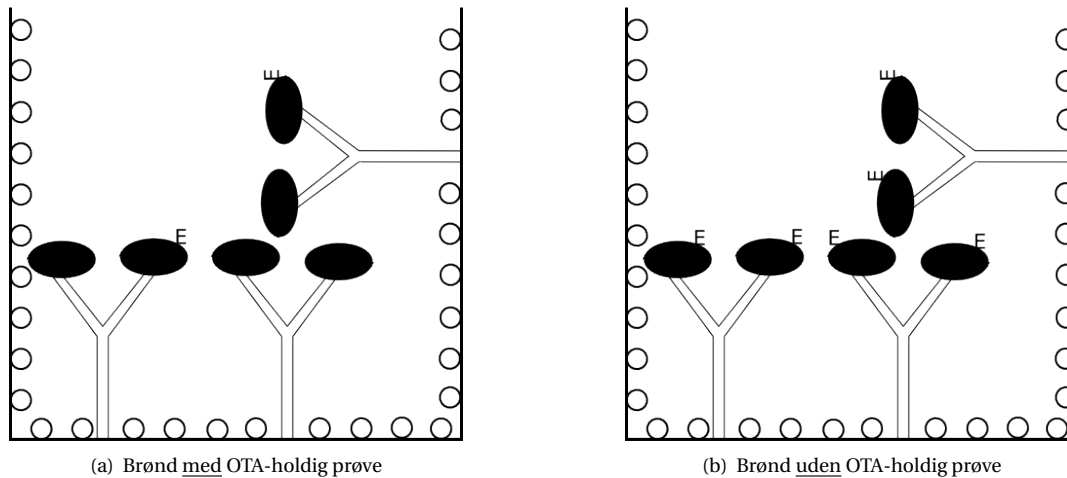
# Bioteknologi, aflevering uge 45

november 2008

## Opgave a.

Tegn en skitse der illustrerer placeringen af antistof, antigen og enzymkonjugat både i en brønd med OTA-holdig prøve og i en brønd uden OTA-holdig prøve.

Se figur 1(a) og 1(b).



Figur 1: Brønde med antistof

## Opgave b.

Angiv om ELISA-metoden er kompetitiv eller non-kompetitiv. Svaret begrundes.

OTA i prøven og enzymkonjugatet konkurrerer om pladserne på antistoffet, så der er altså tale om kompetitiv ELISA.

## Opgave c.

Anvend oplysningerne i bilag 5.2 til at beregne koncentrationen af ochratoxin A i de to prøver. Vurder herefter, om de to partier majs mel må anvendes til produktion af babygrød.

$$\text{Abs} = -0,6344 \cdot \log(\text{konc.}) + 2,5375$$

$$\Leftrightarrow \log(\text{konc.}) = \frac{\text{Abs} - 2,5375}{-0,6344}$$

$$\Leftrightarrow \text{konc.}^{\text{prøve 1}} = 10^{\frac{\text{Abs} - 2,5375}{-0,6344}} \text{ ng/L} = 10^{\frac{1,537 - 2,5375}{-0,6344}} \text{ ng/L} = 10^{1,57708} \text{ ng/L} \approx 37,76 \text{ ng/L}$$

$$\text{konc.}^{\text{prøve 2}} = 10^{\frac{1,136 - 2,5375}{-0,6344}} \text{ ng/L} = 10^{2,209174} \text{ ng/L} \approx 161,9 \text{ ng/L}$$

Ved prøve 1 er der afvejet 10,0113g prøve i 50,0mL buffer. Det svarer til  $10,0113\text{g}/50,0\text{mL} \cdot 1000\text{mL/L} = 200,226\text{g/L}$ . Den beregnede koncentration betyder, at der ville blive fundet 37,76ng ochratoxin A i en liter. I en liter er der altså fundet 37,76ng OTA ud af 200,226g prøve. Det vil altså sige, at

$$\frac{37,76\text{ng}}{200,226\text{g}} \cdot \frac{10^{-3}\mu\text{g/ng}}{10^{-3}\text{kg/g}} = 0,189 \frac{\mu\text{g}}{\text{kg}}$$

På samme måde kan prøve 2's indhold af ochratoxin bestemmes:

$$\frac{161,9\text{ng}}{200,226\text{g}} \cdot \frac{10^{-3}\mu\text{g/ng}}{10^{-3}\text{kg/g}} = 0,808\frac{\mu\text{g}}{\text{kg}}.$$

Prøve 1 kan altså bruges til at lave babygrød af, men det kan prøve 2 ikke, da ochratoxin A-indholdet overstiger grænseværdierne.

#### **Opgave d.**

*Et laboratorium skal analysere kornprøver (raw grain), som forventes at have et ochratoxin A indhold på op til 5× den tilladte grænseværdi. Vurder om det er nødvendigt at fortynde supernatanten inden måling med ELISA.*

Hvis der er 5× den tilladte grænseværdi, svarer det til 25μg/kg. Der udtages 10g prøve i 50,0mL buffer. Det svarer til 0,2g/mL.  $\frac{10^{-3}\text{kg/g}}{10^{-3}\text{L/mL}} = 0,2\text{kg/L}$ . Det svarer altså til en ochratoxin A-koncentration i prøven på 25μg/kg-0,2kg/L = 5μg/L = 5000ng/L. For at være inden for linearitetsområdet, skal der være en koncentration på 2025ng/L. Der skal altså fortyndes  $\frac{5000}{2025} \approx 2,5$  gange, før der kan måles.

#### **Opgave e.**

*Det oplyses at ochratoxin er et haptent. Forklar hvad et haptent er.*

Et stof, der ikke er direkte immunogen. For udløsning af en immunreaktion skal haptentet først associeres med et protein, hvorved der dannes et immunogent kompleks, som kan genkendes af immunsystemet.

#### **Opgave f.**

*Kan ochratoxin A påvises ved direkte, non-kompetitiv, sandwich ELISA? Svaret begrundes.*

Nej, haptenter har kun et bindingssted, og kan altså ikke indgå i sandwich ELISA, da det kræver mindst 2 bindingssteder.