

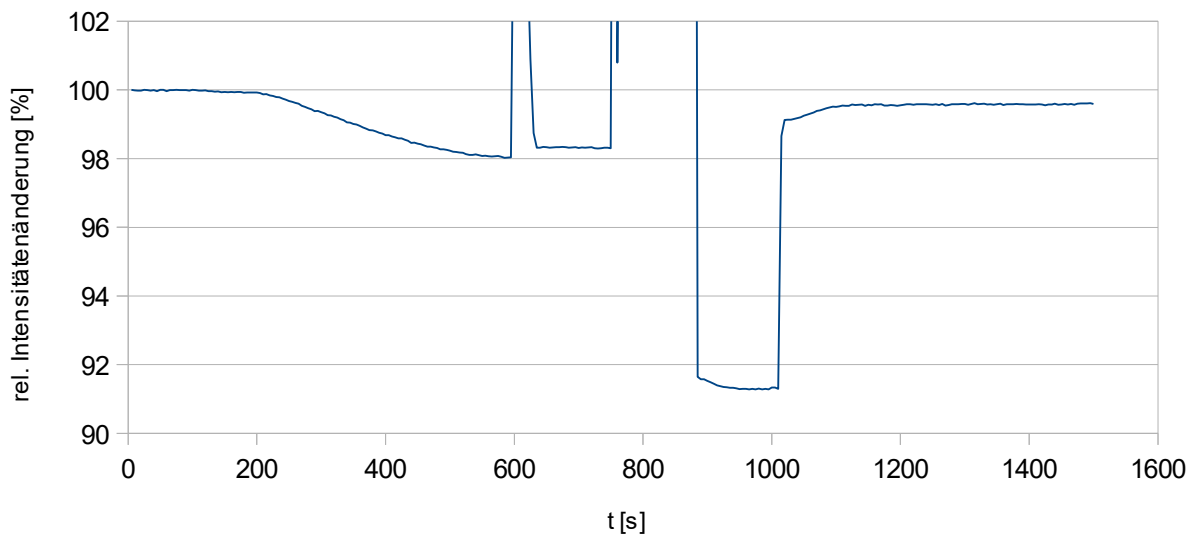
Auswertung

Aufgabe 1: Darstellung der Messungen

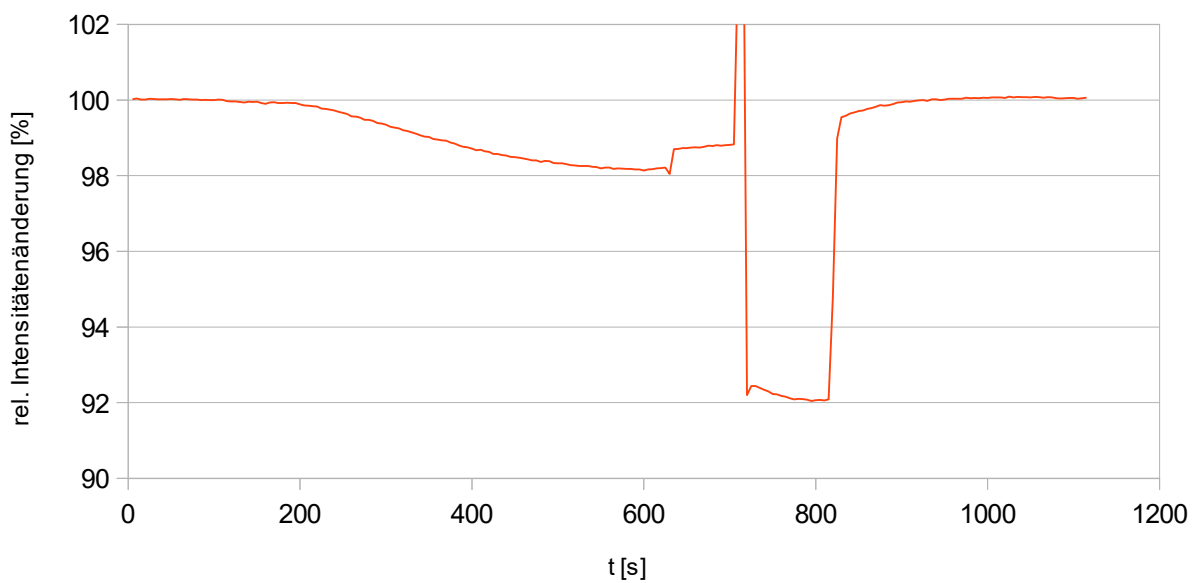
Massentransport kontrolliert

Die erste und vierte (letzte) Messung sollten identisch durchgeführt werden. Es wurden je 1ml der Testosteron-Antikörper-Lösung mit einer Konzentration von $2,5\mu\text{g/ml}$ verwendet.

Messung 1



Messung 4

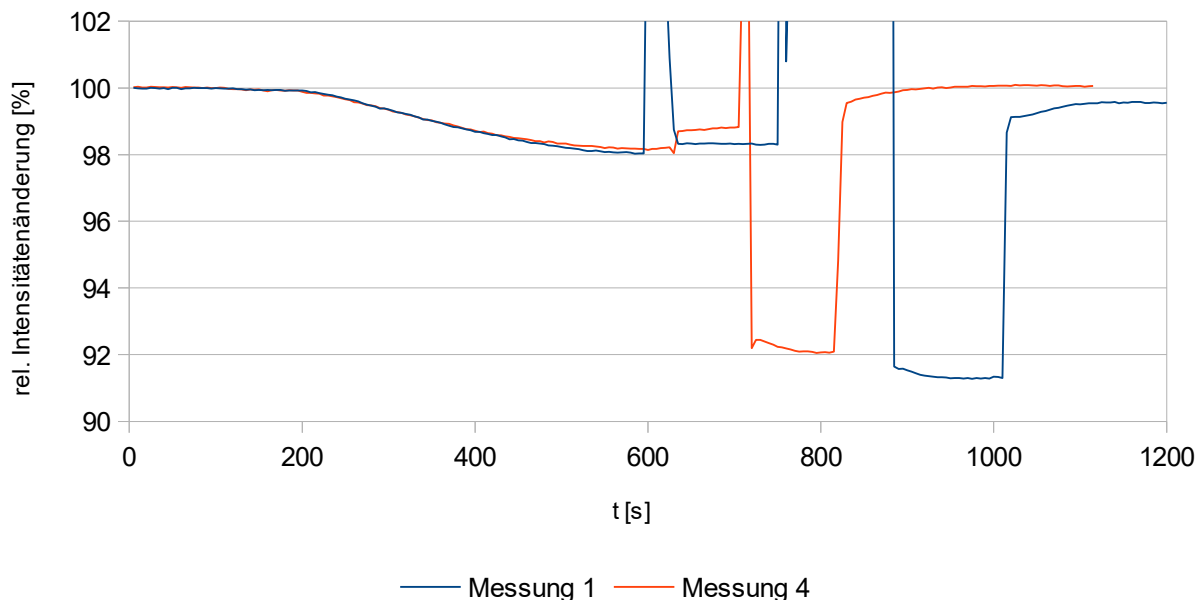


Kurvenverlauf (Messung 4):

Nach knapp 100 Sekunden wird die Probe injiziert und nach ca. 180 Sekunden ist ein Signalabfall zu erkennen. Es werden immer mehr Antikörper an das Analyt-Derivat gebunden. Nach 450 Sekunden nimmt die Anbindung der Antikörper an das Analyt-Derivat ab. Grund dafür ist die Oberflächensättigung. Ab 700 Sekunden wird Guanidiniumhydrochlorid hinzugegeben. Die Intensität steigt kurz an und fällt danach wieder ab. Es stellt sich bei nahezu konstanter relativer Intensität die Regeneration ein. Beim letzten Schritt, indem wieder der PBS-Puffer angeschlossen wird, entsteht wieder die Baseline.

Mit der Bedienung des Gerätes einige Probleme. Es kam oft zu großen Ausreißern, was auf Luft im Schlauch/Gerät zurückzuführen ist. Daher mussten die Umschaltzeitpunkte von der Anleitung variiert werden, um bessere Ergebnisse zu erzielen.

Messungen 1&4: Testosteron-Antikörper-Lösung mit $c=2,5\mu\text{g/ml}$



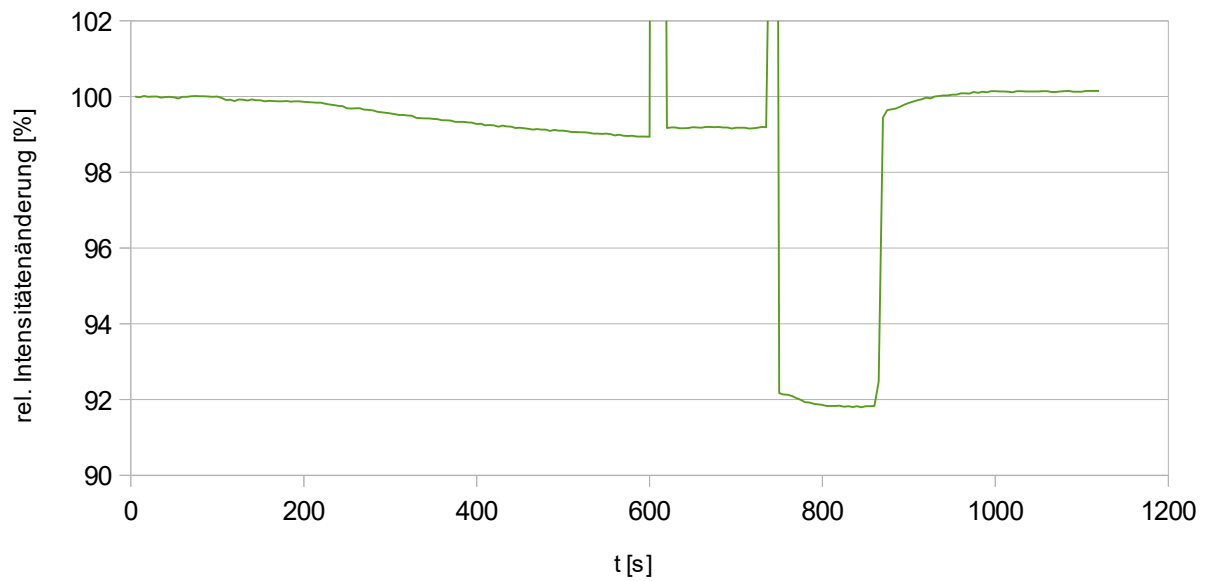
Aufgrund unseres bereits beschriebenen Problems und der unterschiedlichen Ausführung kann deutliche Unterschiede erkennen. Allerdings liegen die Kurven im relevanten Bereich fast genau übereinander. Somit ist die Reproduzierbarkeit gegeben.

Bindungshemmtest

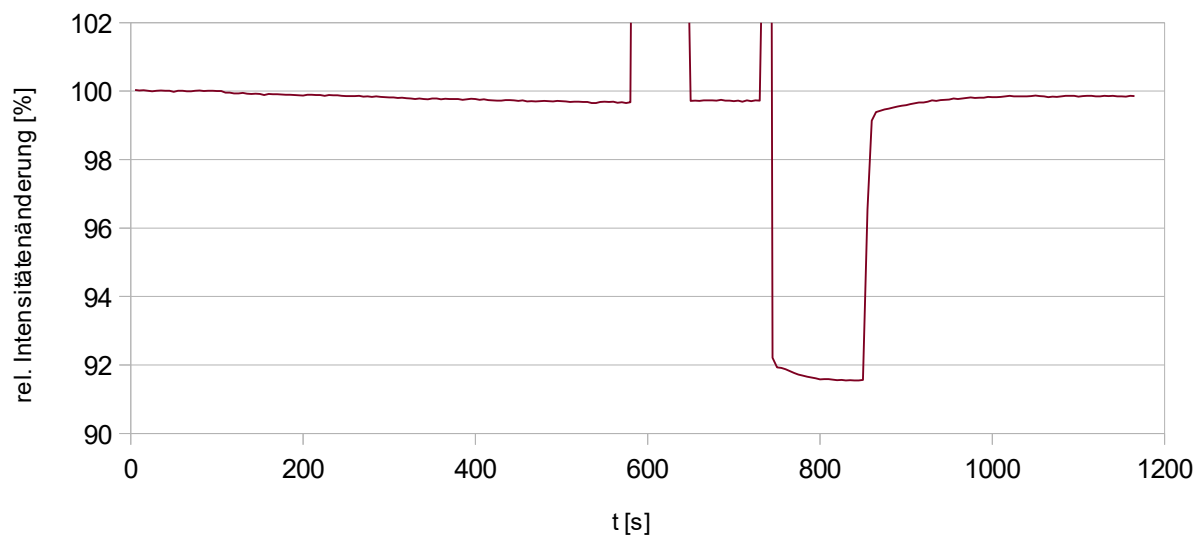
Zur Durchführung des Bindungshemmtests wurden die beiden Analytkonzentrationen 3ng/ml sowie $6,5\text{ng/ml}$ vorgegeben. Dazu wurden aus der Stammlösung mit 100ng/ml Testosteron 30 bzw. $65\mu\text{l}$ entnommen und mit $100\mu\text{l}$ der Testosteron-Antikörper-Lösung ($c=2,5\mu\text{g}/100\mu\text{l}$) sowie mit 870 bzw. $835\mu\text{l}$ PBS-Puffer verdünnt und anschließend vorinkubiert.

2013

Messung 2 (3ng)

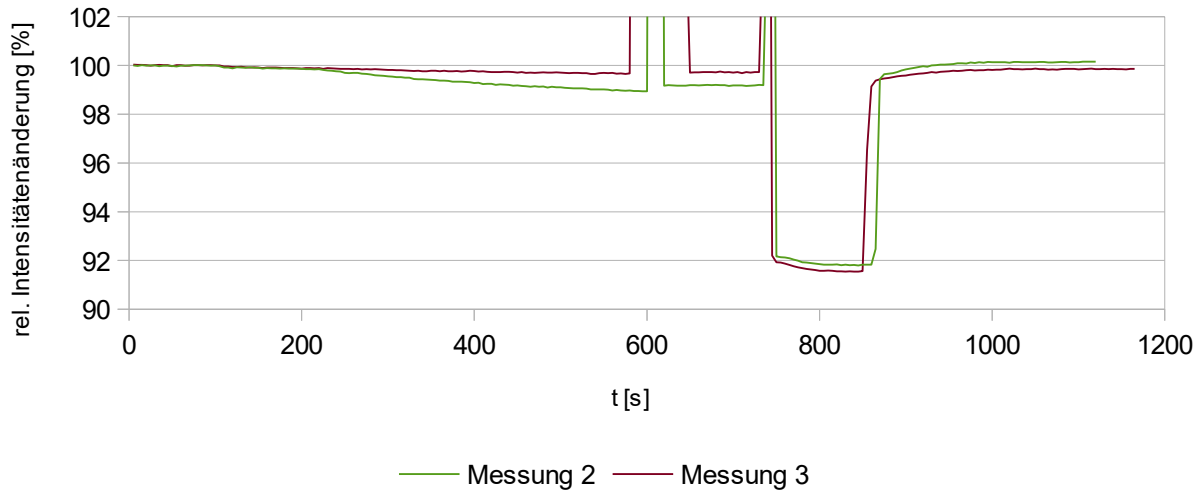


Messung 3 (6,5ng)



Wie bereits erwähnt hatten wir auch hier Probleme mit Luft im Schlauch, was erneut zu Ausreißern in den Kurven führte.

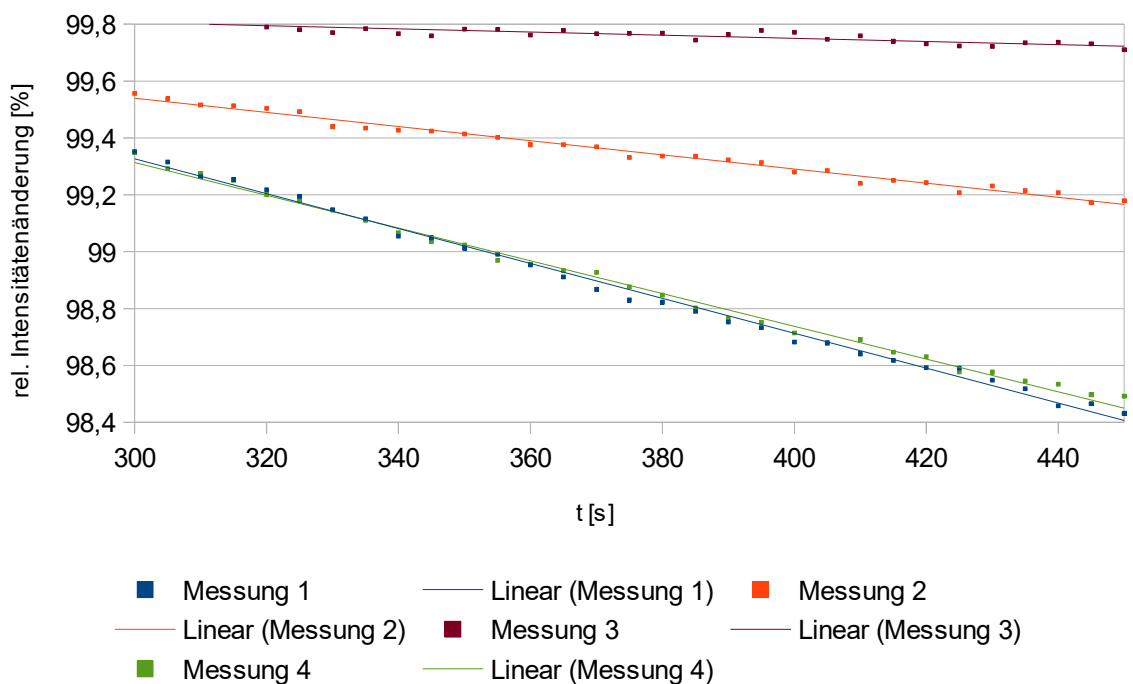
Messungen 2&3: 2,5µg/ml Antikörperlösung, mit
 - 3ng Testosteron (Messung 2)
 - 6,5 ng Testosteron (Messung 3)



Hier im Vergleich ist deutlich zu erkennen, dass bei der dritten Messung mit höherer Konzentration eine geringere Signaländerung stattfindet. Dies ist darauf zurückzuführen, dass die Antikörper aufgrund vorheriger Bindung weniger freie Bindungsstellen für die an der Sensoroberfläche befestigten Analyte haben.

Aufgabe 2: Kurvensteigung

Lineare Fits



	Messung 1	Messung 2 (3ng)	Messung 3 (6,5ng)	Messung 4
Steigung [%]	-0,00614	-0,00249	-0,00056	-0,00576

Die Steigungen der ersten und letzten Messung sollten gleich sein. Der bestehende Unterschied ist entweder auf unsere Fehler oder auf im Schlauch verbliebenen Antigenen nach Messung 3 zurückzuführen.

Die (Beträge) der Steigungen der zweiten und dritten Messung fällt wie erwartet geringer aus. Auch die geringere Steigung der dritten gegenüber der zweiten Messung war zu erwarten (Erklärung s.o.) und bestätigt die Theorie.

Alternativ könnten die Kurven noch ausgewertet werden, indem die Differenzen der jeweiligen Ausgangsbases und der sich nach Probeninjektion einstellenden Bases gebildet werden. So würde man auch ein konzentrationsabhängiges Signal erhalten.

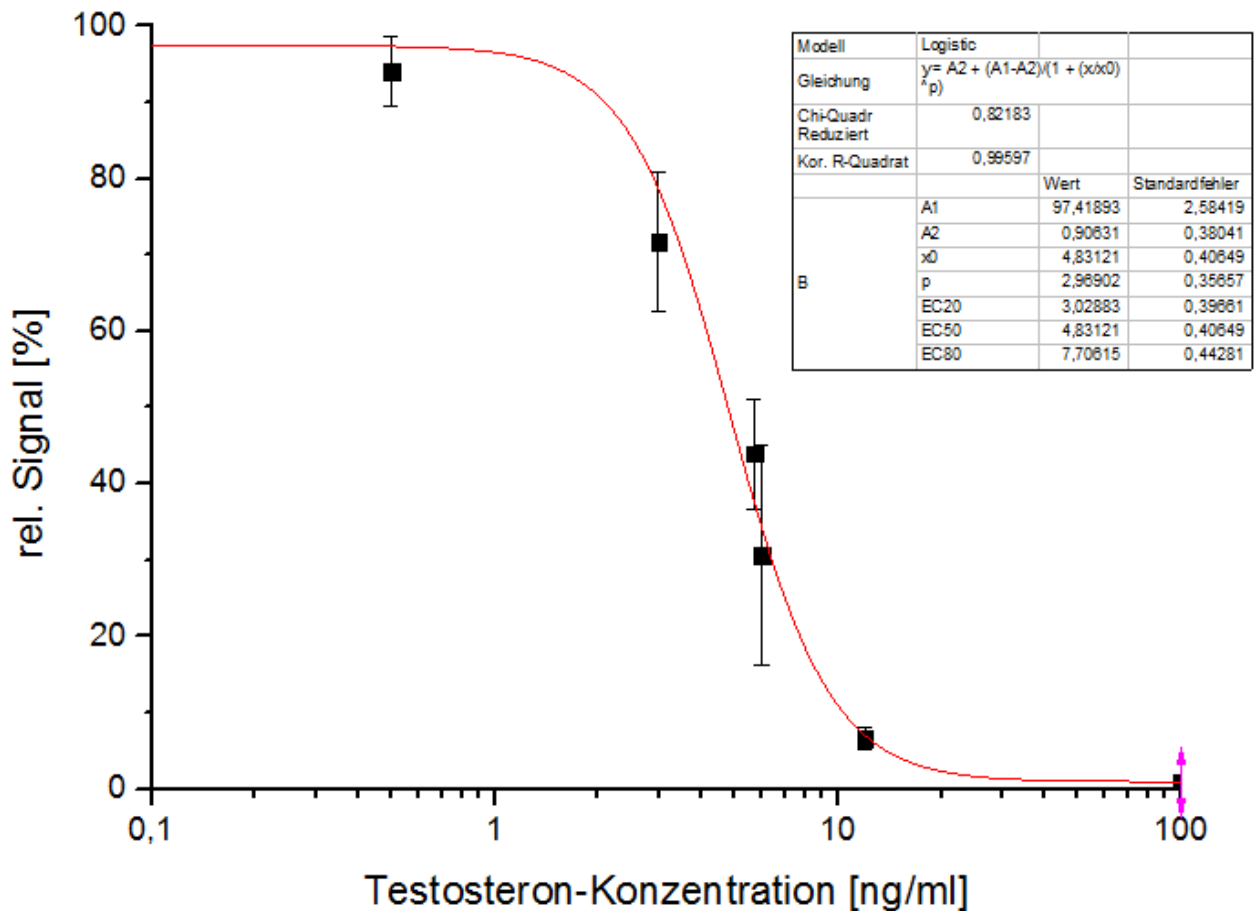
Aufgabe 3: Kalibrierkurve

Mit den gegebenen Daten wurde folgende Tabelle berechnet:

Testosteron-Konzentration [ng/ml]	Betrag relative Steigung M1 [%]	Betrag relative Steigung M2 [%]	Betrag relative Steigung M3 [%]	Mittelwert [%]	Standardabweichung [%]	Mittelwert auf 100% normiert	Standardabweichung auf 100 % normiert
0	0,00807	0,00868	0,00844	0,0083966667	0,0003073001	100	3,6597864689
0,5	0,00796	0,00825	0,00749	0,0079	0,0003835362	94,084954347	4,5677194706
3	0,0053	0,00595	0,00682	0,0060233333	0,0007626489	71,7348154029	9,0827577519
5,7	0,00305	0,00426	0,00375	0,0036866667	0,0006074811	43,9063120286	7,2347892607
6	0,00187	0,00397	0,00187	0,00257	0,0012124356	30,6073838825	14,4394866848
12	4,59E-04	5,24E-04	6,82E-04	0,000555016	0,0001146539	6,6099563319	1,3654691259
100	1,01E-04	9,75E-05	3,87E-05	0,000079105	3,50708358857232 E-005	0,9420996427	0,4176756953

Die Standardabweichungen wurden mit dieser Formel berechnet:

$$sdv(M) = \sqrt{\frac{1}{3-1} \sum_{i=1}^3 (M_i - \bar{M})^2}$$



Die verwendete Formel lautet:

$$y = \frac{A_1 - A_2}{1 + \left(\frac{x}{x_0}\right)^p} + A_2$$

Durch Umstellen ergibt sich für die Konzentration:

$$x = \sqrt[p]{\frac{A_1 - A_2}{y - A_2} - 1} x_0$$

Um unsere Werte zu überprüfen, bilden wir zunächst den Mittelwert der Steigungen der beiden identischen Messungen 1&4:

$M_{14} = -0,00595\% \rightarrow$ auf 100% normieren

Die anderen beiden werden jetzt ebenfalls normiert:

$M_2 = 41,85\%$

$M_3 = 9,41\%$

Wenn man diese Werte (als y) in die Funktion einsetzt erhält man:

$c_2 = 5,3547 \text{ ng/ml}$

$c_3 = 10,6143 \text{ ng/ml}$

Hiermit lassen sich nun die Wiederfindungsraten berechnen:

$$WFR_2 = \frac{c_{2\text{ist}}}{c_{2\text{soll}}} \cdot 100\% = 56,03\%$$

$$WFR_3 = \frac{c_{3\text{ist}}}{c_{3\text{soll}}} \cdot 100\% = 61,24\%$$

Man sieht also, die Wiederfindungsraten sind relativ gering und die Ergebnisse entsprechen nicht den zu erwartenden Werten, was - wie bereits erwähnt - unseren unterschiedlichen Umschaltzeitpunkte oder Antigenresten im Schlauch zuzuordnen ist.

Aufgabe 4: Berechnung der Testosteronmenge

$$M_{AG} = 361,5 \text{ g/mol} \quad M_{AK} = 150000 \text{ g/mol} \quad m_{AK} = 2,5 \mu\text{g} = 2,5 \cdot 10^{-6} \text{ g}$$

$$n_{AK} = \frac{m_{AK}}{M_{AK}} = 1,66 \cdot 10^{-11} \text{ mol}$$

Da jeder Antikörper zwei Bindungsstellen besitzt, muss die Anzahl der Antigene doppelt so groß sein:

$$n_{AG} = 2 \cdot n_{AK} = 3,33 \cdot 10^{-11} \text{ mol}$$

$$m_{AG} = M_{AG} \cdot n_{AG} = 12,05 \cdot 10^{-9} \text{ g} = 12,05 \text{ ng}$$

Somit sind theoretisch 12,05ng Testosteron nötig, um die eingesetzte Menge an Antikörpern vollständig zu inhibieren.