



## Courses

Home » Teaching

### Automation and Robotics

- [Controlli Automatici e Meccanica dei Robot](#) - Corso di Laurea Magistrale in Ingegneria Meccanica
- [Robotica: Controllo dei Robot](#) - Corso di Laurea Magistrale in Ingegneria Robotica e dell'Automazione
- [Identificazione di Sistemi Incerti](#) - Corso di Laurea Magistrale in Ingegneria Robotica e dell'Automazione
- [Fondamenti di Automatica](#) - Corso di Laurea in Ingegneria Meccanica
- [Underwater Systems - Sistemi Subacquei](#) - Corso di Laurea Magistrale in Ingegneria Robotica e dell'Automazione
- [Teoria dei Sistemi](#) - Corso di Laurea Triennale in Ingegneria dell'Energia
- [Robotica: Sistemi Robotici Distribuiti](#) - Corso di Laurea Magistrale in Ingegneria Robotica e dell'Automazione
- [Robotica / Sistemi per l'Automazione 2007-2008 / Robotica Industriale V.O.](#) - Corso di Laurea Magistrale in Ingegneria Meccanica
- [Regolazione e Controllo dei Sistemi Meccanici](#) - Corso di Laurea in Ingegneria Meccanica L5 vecchio ordinamento
- [Sistemi per l'Automazione 2003 - 2006](#) - Corso di Laurea Magistrale in Ingegneria Meccanica
- [Teoria dei Sistemi \(V.O.\)](#) - Corso di Laurea in Ingegneria Informatica vecchio ordinamento
- [Course on Model Predictive Control](#)

### Tag Cloud

Automation Bioengineering  
Biofabrication Human Machine  
Visual Servoing Robotics

# Attrezzatura da laboratorio

## Strumenti misurazione volume

- Il volume dipende dalla TEMPERATURA. I contenitori in vetro hanno coefficienti di espansione molto piccoli; generalmente, lavorando a temperatura ambiente (20 °C), non sono necessarie correzioni per temperatura.



Beuta  
Errore  $\pm 10\%$



Cilindro  
Errore  $\pm 1\%$



Beacker  
Errore  $\pm 10\%$

Per  
contenere



Matraccio  
Errore  $\pm 0.05\%$

Per versare



Pipetta tarata  
Errore  $\pm 0.1\%$



Pipetta  
graduata  
Errore  $\pm 0.05\%$



Buretta  
Errore  $\pm 0.1\%$

# Attrezzatura da laboratorio

Matraccio (pallone tarato)



Per contenere una quantità FISSA di soluzione (5 mL – 5 L)  
Errore  $\pm 0.05 \%$

Pipette



GRADUATA

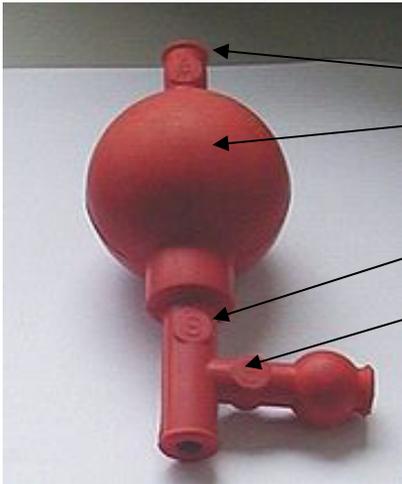
Per trasferire in modo ACCURATO una quantità FISSA (tarata ad una o due tacche) o VARIABILE (graduata) di soluzione Errore  $\pm 0.05\%$  per la GRADUATA Errore  $\pm 0.1\%$  per la TARATA



TARATA

# Attrezzatura da laboratorio

## Palla Peleo o “porcellino”



- A) per far vuoto nella propipetta
- S) per aspirare
- E) per evacuare



# Attrezzatura da laboratorio

## Pipettatore automatico



Utilizzata per le colture cellulari

# Attrezzatura da laboratorio

## Pipette automatiche di precisione

Uso



### Aspirazione del reagente

1. Premere il tasto di pipettaggio fino al 1° scatto. Tenere la pipetta in posizione verticale e immergere il puntale nel liquido.

Volume	Profondità d'immersione in mm	Tempo di attesa in s
0,1 µL - 1 µL	1 - 2	1
> 1 µL - 100 µL	2 - 3	1
> 100 µL - 1000 µL	2 - 4	1
> 1000 µL	3 - 6	3

2. Rilasciare lentamente il pulsante della pipetta per aspirare il liquido.



### Erogazione del reagente

1. Appoggiare il puntale della pipetta alla parete del contenitore, quindi premere lentamente il tasto di pipettaggio a velocità costante fino al 1° scatto e tenerlo premuto.
2. Svuotare poi completamente il puntale con lo scarico, premendo il tasto di pipettaggio fino al 2° scatto e strofinare il puntale della pipetta contro la parete del contenitore per circa 10 mm.



### Espulsione del puntale

Premere el'espulsore.

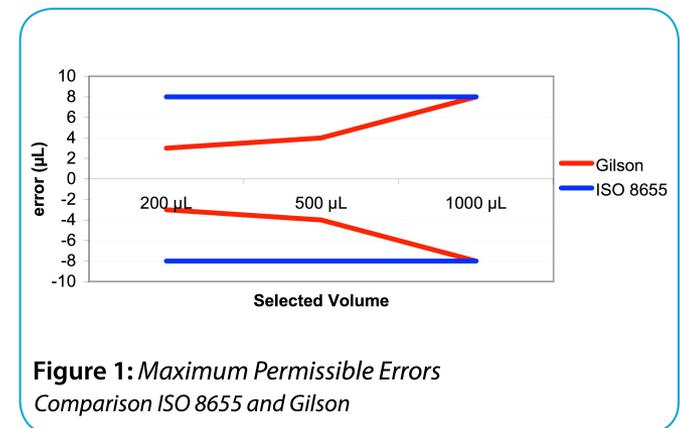


Figure 1: Maximum Permissible Errors Comparison ISO 8655 and Gilson

# Attrezzatura da laboratorio

## Misure di massa

BILANCIA TECNICA: precisione 0.01 g



BILANCIA ANALITICA: precisione 0.0001 - 0.00001 g

## Consigli e precauzioni

- 1) centrare il carico sul piattino della bilancia
- 2) proteggere la bilancia da fenomeni di corrosione
- 3) prestare maggiore attenzione quando si pesano liquidi
- 4) mantenere la bilancia in perfetto stato di ordine e pulizia
- 5) lasciare raffreddare i sali prima di pesarli

# Attrezzatura da laboratorio

Piastre multiwell



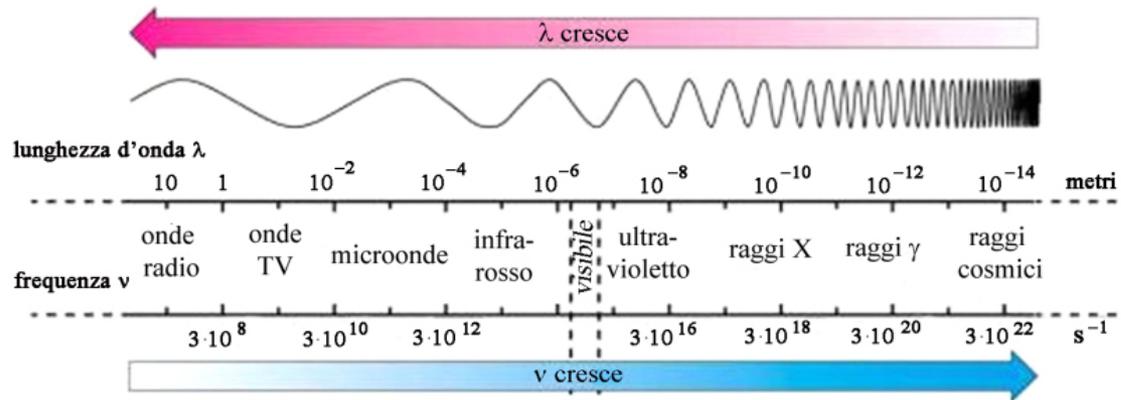
Piastre Petri



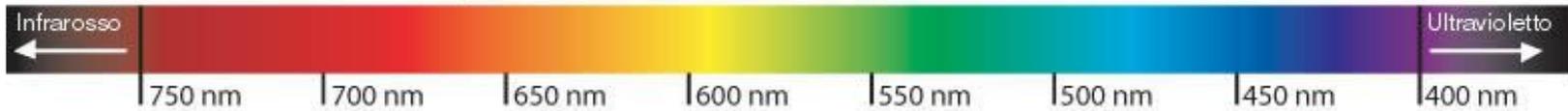
Fiasche per colture cellulari



# Spettrofotometria UV-visibile



**Spettro di luce visibile all'occhio umano**



$$E = h\nu$$

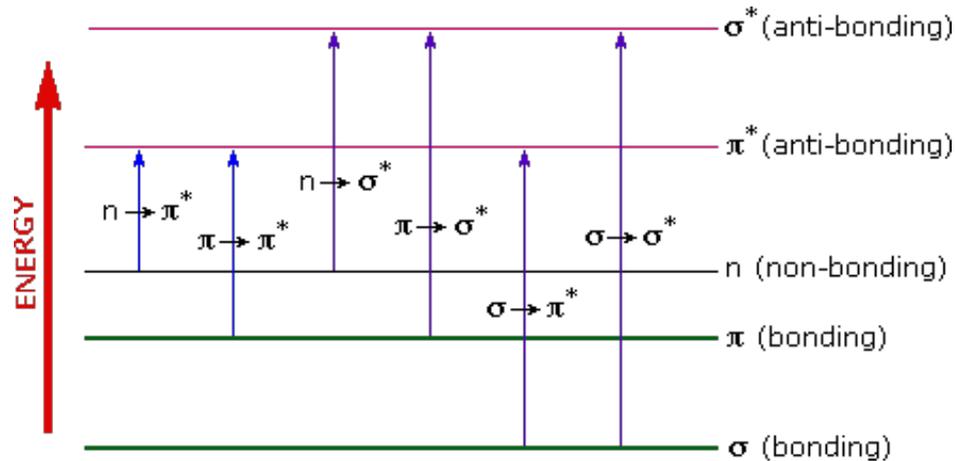
E energia associata alla radiazione

h costante di Plank

$\nu$  Frequenza

E direttamente proporzionale alle  
frequenza e inversamente alla  
lunghezza d'onda

# Interazione radiazione molecola



$$E = h\nu$$

$$\lambda = c/\nu$$

## ASSORBIMENTO:

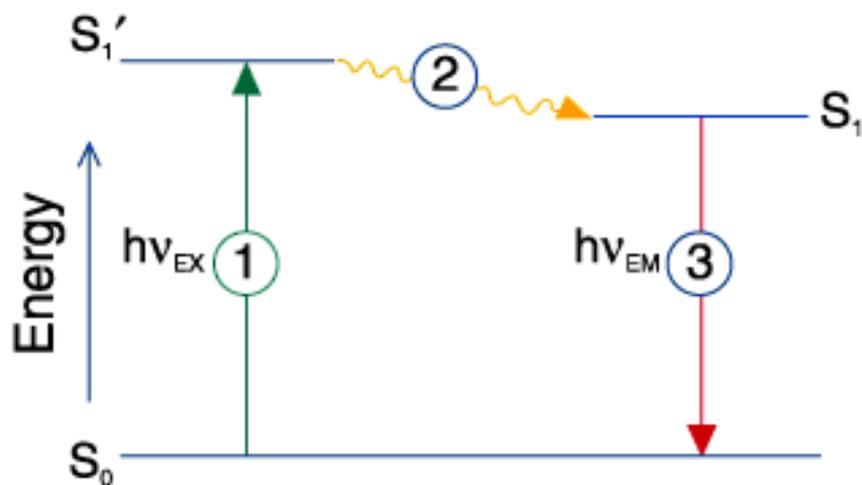
quando atomi o molecole vengono eccitati da adatte radiazioni elettromagnetiche ("hv") e passano a stati energetici maggiori

TIPO DI TRANSIZIONE	LUNGHEZZA D'ONDA DELLA RADIAZIONE NECESSARIA PER OTTENERE LA TRANSIZIONE	La $\lambda$ necessaria per la transizione è tanto maggiore quanto minore è il dislivello energetico
$\sigma \rightarrow \sigma^*$	110 – 135 nm	
$\pi \rightarrow \pi^*$	160 – 255 nm	
$n \rightarrow \sigma^*$	> 285 nm	

Gli elettroni  $\pi$  sono 'meno legati' e risultano perciò più facilmente eccitabili rispetto ai  $\sigma$ ; per esempio per eccitare gli elettroni  $\pi$  dell'etilene occorre una quantità di energia corrispondente ad una radiazione di 180nm (vicino U.V.) contro i 120nm (lontano U.V.) della radiazione necessaria per eccitare gli elettroni  $\sigma$ . Più aumentano i legami  $\pi$  meno energia serve e si va nel visibile (sostanze colorate)

# Fluorescenza

Se l'energia acquisita viene in parte riemessa come radiazione elettromagnetica si ha il fenomeno della fluorescenza. Cioè, il ritorno di un elettrone dallo stato eccitato allo stato fondamentale si accompagna all'emissione di un fotone.



1) eccitazione

2) rilassamento  $10^{-12}$  s

*decadimento non radiativo isoenergetico fra stati di uguale molteplicità*

3) Decadimento radiativo  $10^{-9}$  s

$\lambda$  della luce fluorescente è sempre maggiore della lunghezza d'onda della luce eccitante.

Sono fluorescenti le molecole con sistemi ad elevata coniugazione:

- Strutture con molti elettroni  $\pi$  coniugati
- Strutture planari con anelli aromatici

# Spettrofotometri



# Spettrofotometria e fluorimetria

- *Fluorimetria*: elevata sensibilità, che permette di rilevare quantità dell'ordine di un centinaio di pg
- *Fotometria*: l'ordine è dei  $\mu\text{g}$

Perché sono così importanti?

Metodi semplici, poco costosi e che si ritrovano in molte metodiche diagnostiche!!!

Es. Cromatografia, saggi immunoenzimatici

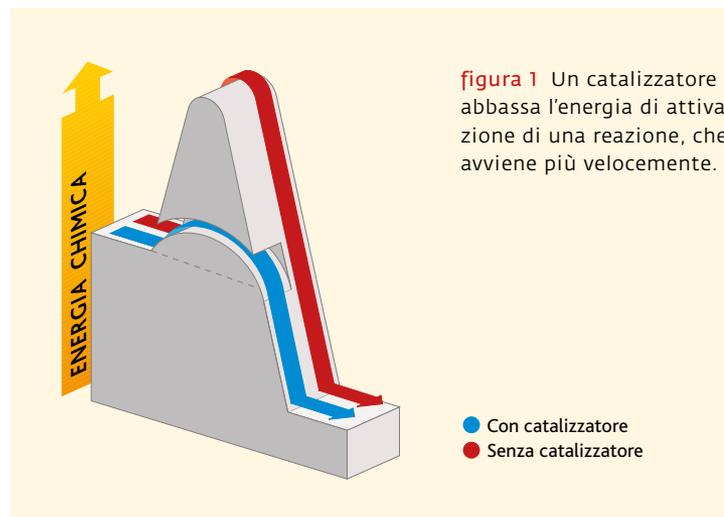
# Saggi immunoenzimatici: ELISA

## (Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay)

- Si basano sull'utilizzo di anticorpi e enzimi
- La quantificazione avviene tramite lettura di un composto fluorescente o colorato prodotto alla fine del saggio
- Sono utilizzati per quantificare in campioni biologici (sangue, siero, terreno di coltura) proteine, miscele omogenee o anche molto eterogenee.
- Sono altamente specifici per la proteina bersaglio, perché si basano sulla interazione antigene anticorpo

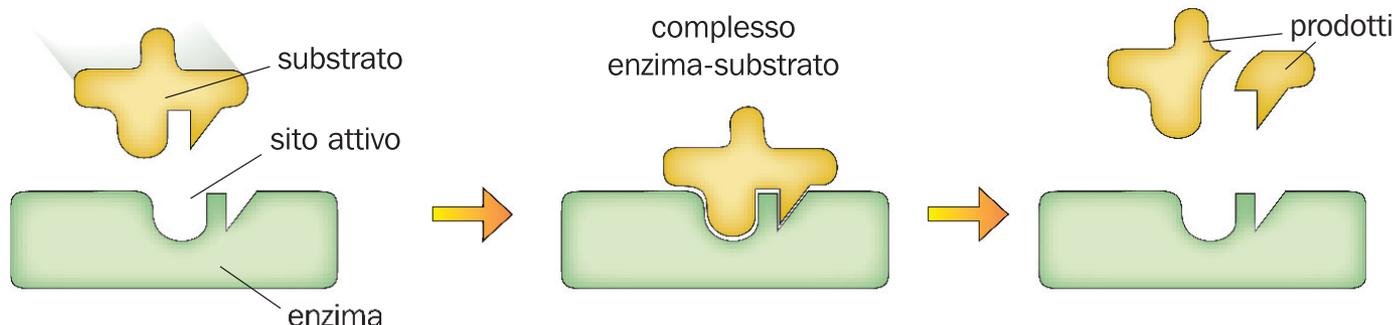
# Enzima cosa è?

- La temperatura di un ambiente cellulare è, per gli standard di una reazione chimica, piuttosto bassa: basti pensare che la normale temperatura corporea nell'uomo e negli altri mammiferi è di circa 37 °C. Nonostante questo le reazioni cellulari possono essere molto veloci.
- **Gli enzimi** sono catalizzatori biologici, molecole proteiche che aumentano la velocità delle reazioni biologiche, abbassando l'energia d'attivazione della reazione.



# Enzima

- Non si deve consumare durante la reazione
- Deve essere efficace anche in piccole quantità
- Presenta sulla superficie una cavità chiamata **sito attivo** capace di accogliere in modo selettivo le molecole che devono reagire (il cosiddetto **substrato**). Questa situazione è analoga a quella di una chiave con la sua specifica serratura.
- Alcuni enzimi invece possono agire su un numero limitato di substrati chimicamente molto simili.
- Una volta combinata con il sito attivo, la molecola reagisce e si trasforma: le molecole dei prodotti abbandonano il sito attivo che può quindi accogliere una nuova molecola di substrato



# Enzima

Le reazioni catalizzate dagli enzimi sono influenzate in modo positivo da tutta una serie di fattori:

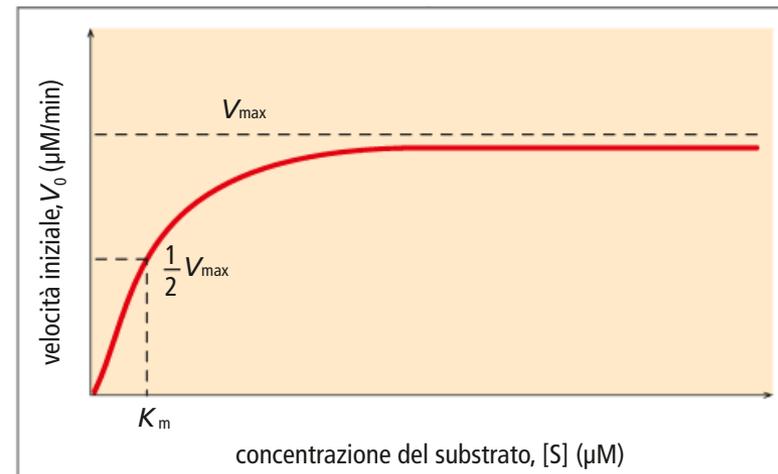
1. concentrazione del substrato;
2. concentrazione dell'enzima;
3. concentrazione dei cofattori;
4. temperatura;
5. pH.

Quando [S] è bassa, la  $V_0$  aumenta in modo quasi lineare con l'aumento di [S]; quando [S] è più elevata,  $V_0$  aumenta in misura sempre minore con l'aumento di [S], avvicinandosi alla velocità massima ( $V_{max}$ ), valore al quale il substrato è talmente concentrato da saturare i siti attivi di ogni molecola di enzima presente

Michaelis-menten

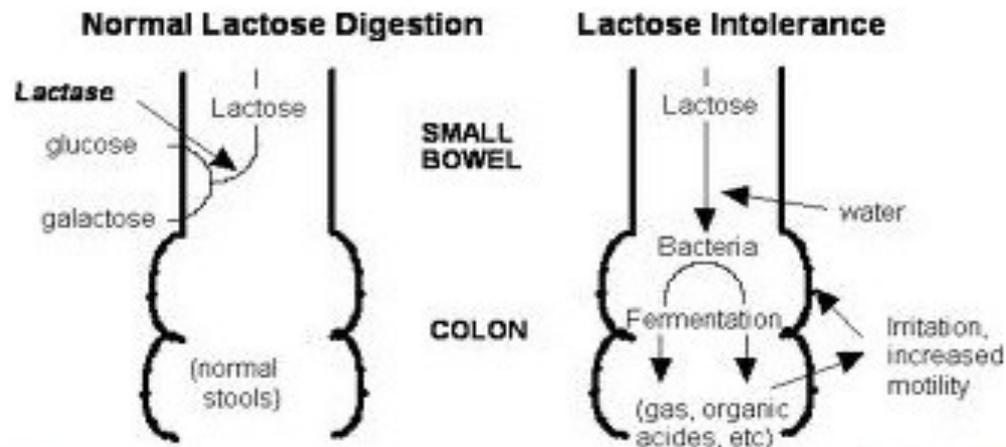
$$V_0 = \frac{V_{max}[S]}{K_m + [S]}$$

Costante di Michaelis ( $K_m$ ), un valore caratteristico per ogni enzima che ne esprime l'affinità per il substrato.  $K_m$  corrisponde alla concentrazione di substrato che determina una velocità di reazione pari a metà della  $V_{max}$ . Se il valore di  $K_m$  è molto grande significa che il legame fra E e S è debole e quindi c'è una bassa affinità; al contrario se la  $K_m$  è molto piccola l'affinità fra E e S è assai elevata



# Enzima

- **Perossidasi:** usano  $H_2O_2$  come substrato per ossidare molecole organiche
- **Fosfatasi:** sono una classe di enzimi idrolasi che catalizzano la rimozione di gruppi fosfato
- **Idrolasi:** catalizza l'idrolisi di un legame chimico  
**Lattasi :** per utilizzare il lattosio come fonte energetica questo viene scisso in galattosio e glucosio a livello intestinale



# Antigene - Anticorpo

Cosa è un antigene?

Il sistema immunitario, sistema di protezione, serve per distinguere ciò che è proprio (**self**) da ciò che è estraneo all'organismo (**not self**). L'antigene è una qualsiasi sostanza riconosciuta come **NOT SELF**, considerata pericolosa e che può modificare l'unicum biochimico di quell'organismo.

Lo stesso antigene può essere not self per l'uomo, ma self per un altro organismo.

# Antigene - Anticorpo

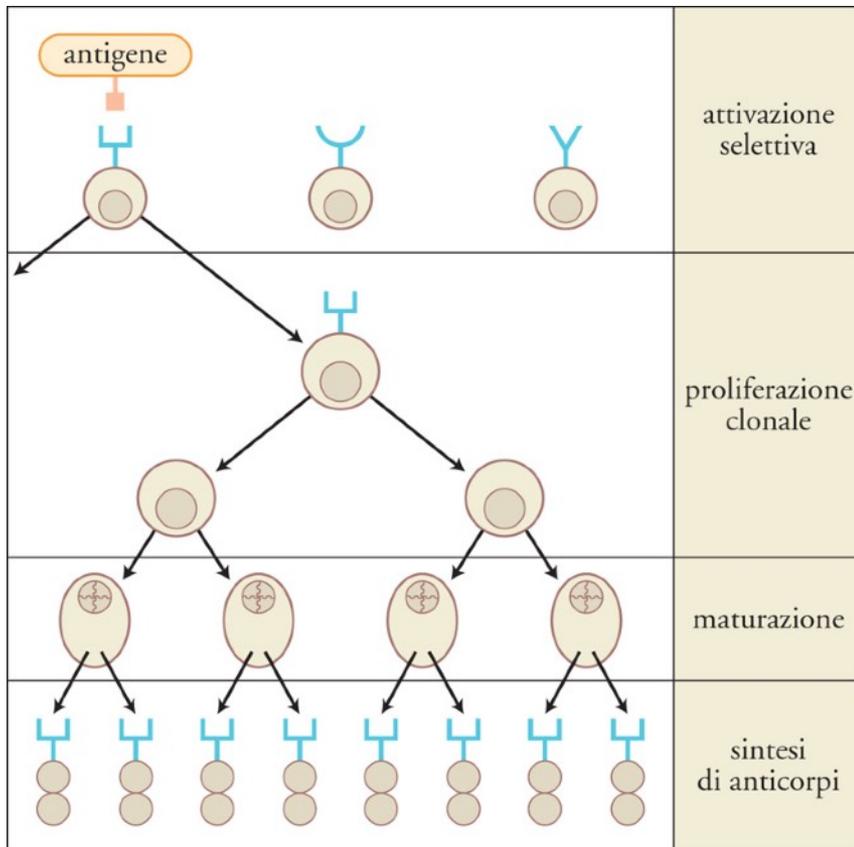
## **ANTIGENE**

Molecola che, introdotta in un organismo, è in grado di attivare la risposta anticorpale. Gli antigeni sono tipicamente macromolecole solubili in acqua e che possiedono un alto grado di complessità chimica. Le proteine eterologhe (cioè, provenienti da organismi diversi) di massa molecolare  $>10000$  Da sono generalmente degli ottimi antigeni, mentre i piccoli peptidi non sono di solito antigenici (eliminati dai macrofagi, senza indurre risposta anticorpale)

# Antigene-Anticorpo

- Una volta che l'antigene entra nel corpo attiva la risposta immunitaria umorale che è mediata dagli **anticorpi** (immunoglobuline), glicoproteine che possiedono domini costanti e domini variabili, in grado di riconoscere antigeni specifici.

# Anticorpo



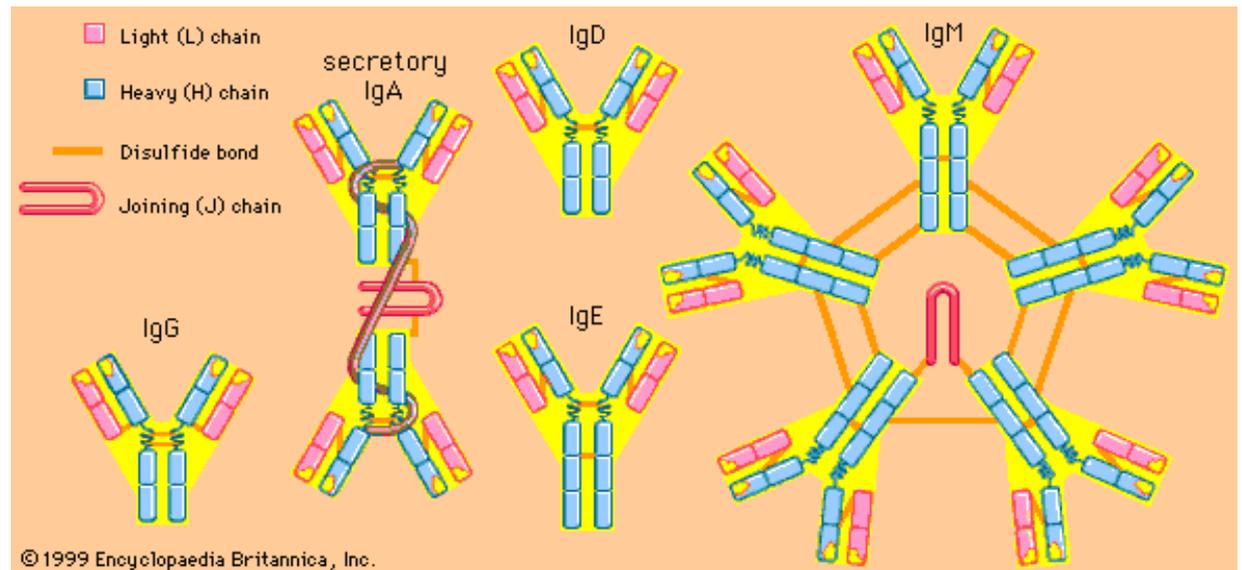
Il primo contatto l'antigene lo ha con il linfocita B che ha un recettore ad esso specifico e che attiva il linfocita. Dopo l'attivazione dei linfociti B essi maturano a plasmacellule e producono l'anticorpo specifico per quell'antigene (una parte dell'anticorpo è il recettore che ha riconosciuto l'antigene sul linfocita)

# Anticorpo

Gli anticorpi, prodotti dalle plasmacellule, appartengono al gruppo di proteine note come immunoglobuline (Ig), classificabili in cinque diverse classi: IgG, IgA, IgM, IgE, e IgD. Le 5 classi di Ig differiscono per il tipo di catene pesanti e per la composizione in subunità.

**"catene leggere"**, aventi peso molecolare 20000 e costituite da circa 220 amminoacidi

**"catene pesanti"** con peso molecolare di circa 55000 e costituite da circa 430 amminoacidi.



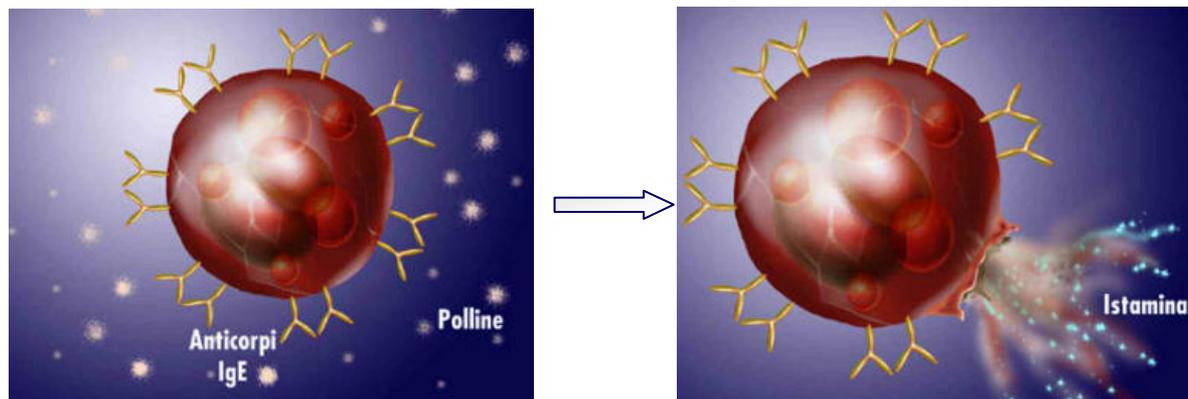
# Anticorpo

**IgD:** Ig di membrana. Concentrazione bassa nel siero. Funzione: segnale per la proliferazione del clone B e il suo differenziamento in plasmacellule.

Valori: 3 mg/dl

**IgE:** estremamente bassa nel siero. Responsabili dei fenomeni di ipersensibilità di tipo immediato (es. reazioni allergiche). IgE + allergene liberazione di istamina.

Valori: 30 µg/dl



# Anticorpo

**IgG:** maggior classe presente nel siero (80%) – sono le uniche Ig che passano dalla madre al feto attraverso la placenta

Valori: 600 – 1800 mg/dl

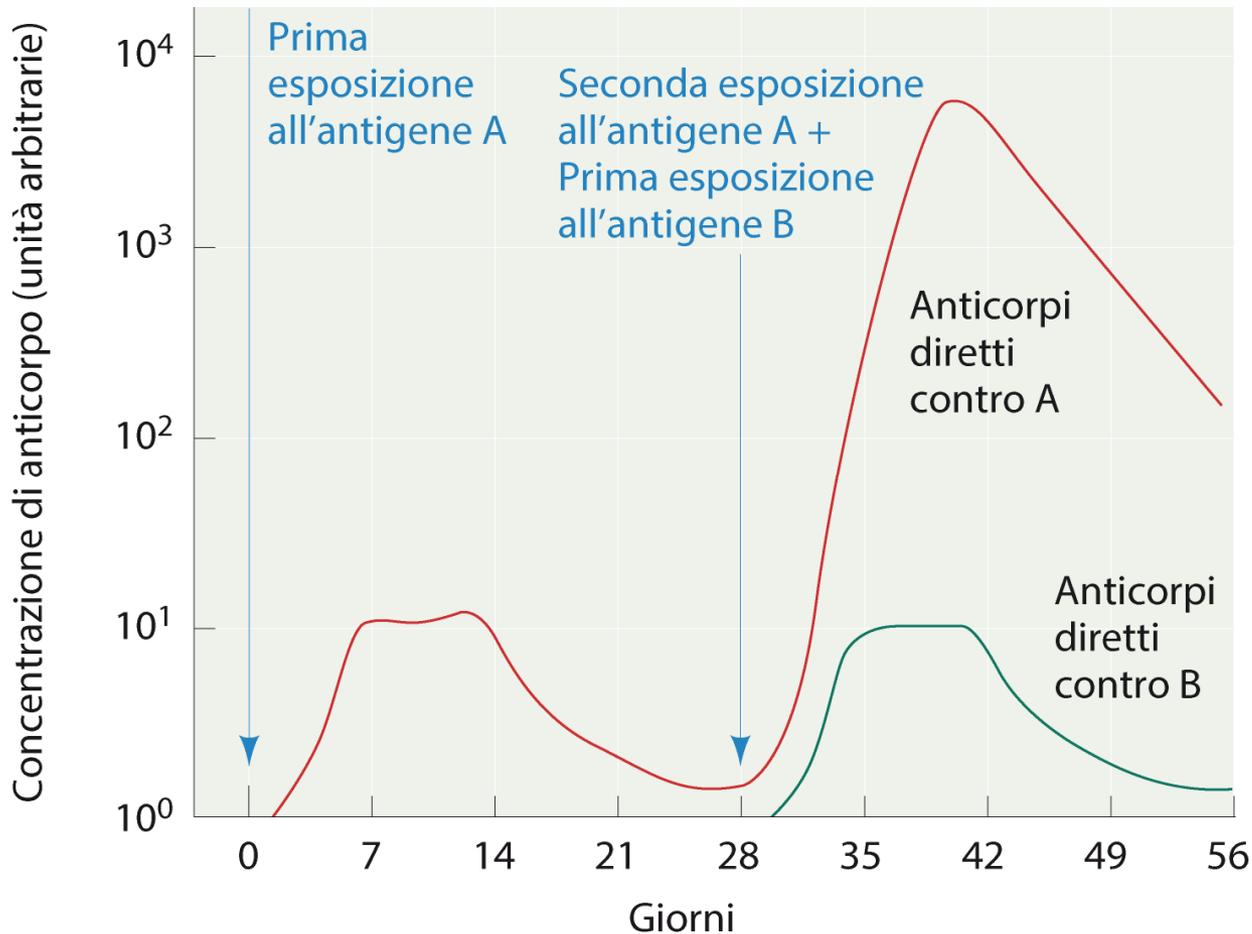
**IgA:** concentrazione bassa nel siero, alta nelle secrezioni (saliva, latte, secrezioni intestinali)

Valori: 90-400 mg/dl

**IgM:** PM circa 970.000 Da – molecole complesse – prodotte subito nella risposta immunitaria primaria – sono presenti oltre che nel siero anche sulla membrana dei linfociti B (Ig di membrana)

Valori: 80-190 mg/dl

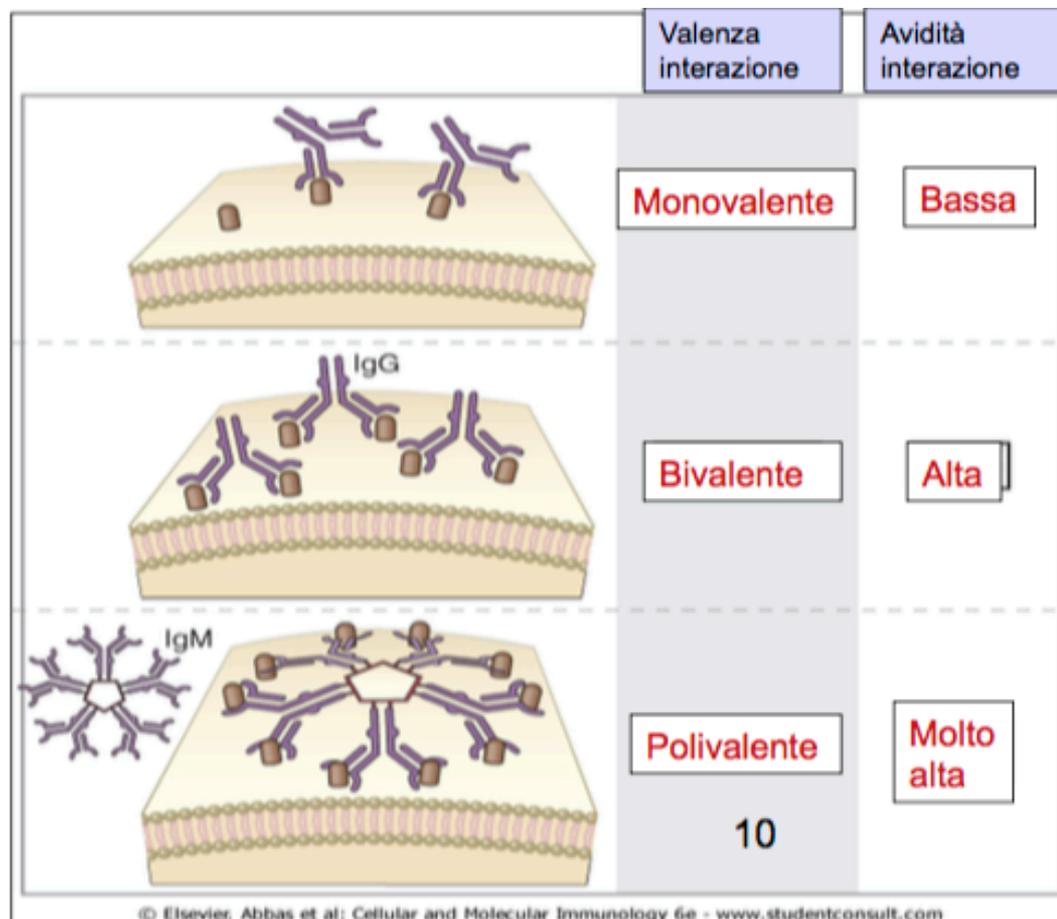
# Risposta Anticorpale



Anche se le cellule B vivono pochi giorni a meno che non siano stimulate dal loro antigene, alcune cellule B con memoria riconoscono il loro antigene dopo settimane o anche dopo anni, producendo una risposta immunitaria più rapida e massiva (risposta secondaria).

# Antigene-Anticorpo

La natura dei legami anticorpo-antigene è non covalente e di tipo reversibile.  
La forza di questo legame è chiamata **affinità** dell'anticorpo.



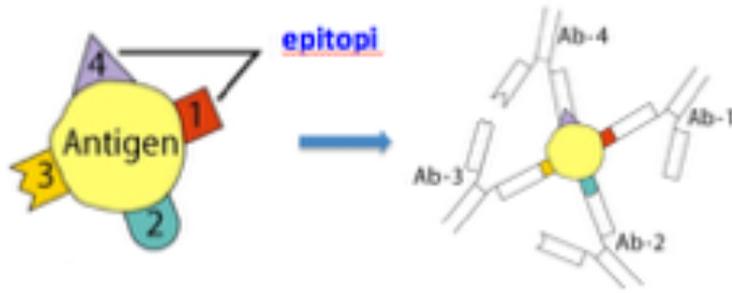
La somma totale delle forze si chiama **avidità**

# Saggi immunoenzimatici legame antigene - anticorpo

Sfruttando la capacità degli anticorpi di legare in maniera specifica delle molecole bersaglio (gli antigeni che ne hanno stimolata la produzione), l'Immunochimica **può determinare la concentrazione, o anche solo la presenza o meno, di una molecola di interesse** in uno specifico **compartimento biologico**.

In questo modo **l'anticorpo** diventa uno dei **reagenti chimici** più utilizzati nelle reazioni biochimiche in ricerca e in diagnostica.

# Anticorpi mono e policlonali



- ✓ Gli epitopi sono i siti dell'antigene a cui si lega l'anticorpo
- ✓ Un antigene può contenere più di un epitopo
- ✓ Ogni anticorpo è specifico per un solo epitopo
- ✓ Un antigene può essere riconosciuto da anticorpi diversi

## Anticorpo policlonale

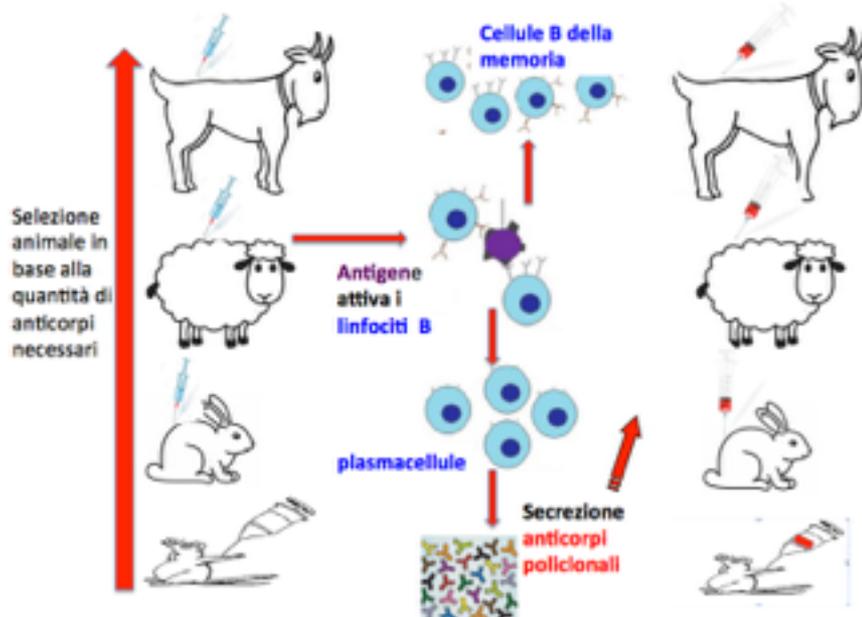
- Lega più di un epitopo

## Anticorpo monoclonale

- Lega un solo epitopo
- Alta selettività e riproducibilità dei risultati, e caratterizzazione

# Anticorpi policlonali

## Produzione Anticorpo policlonale

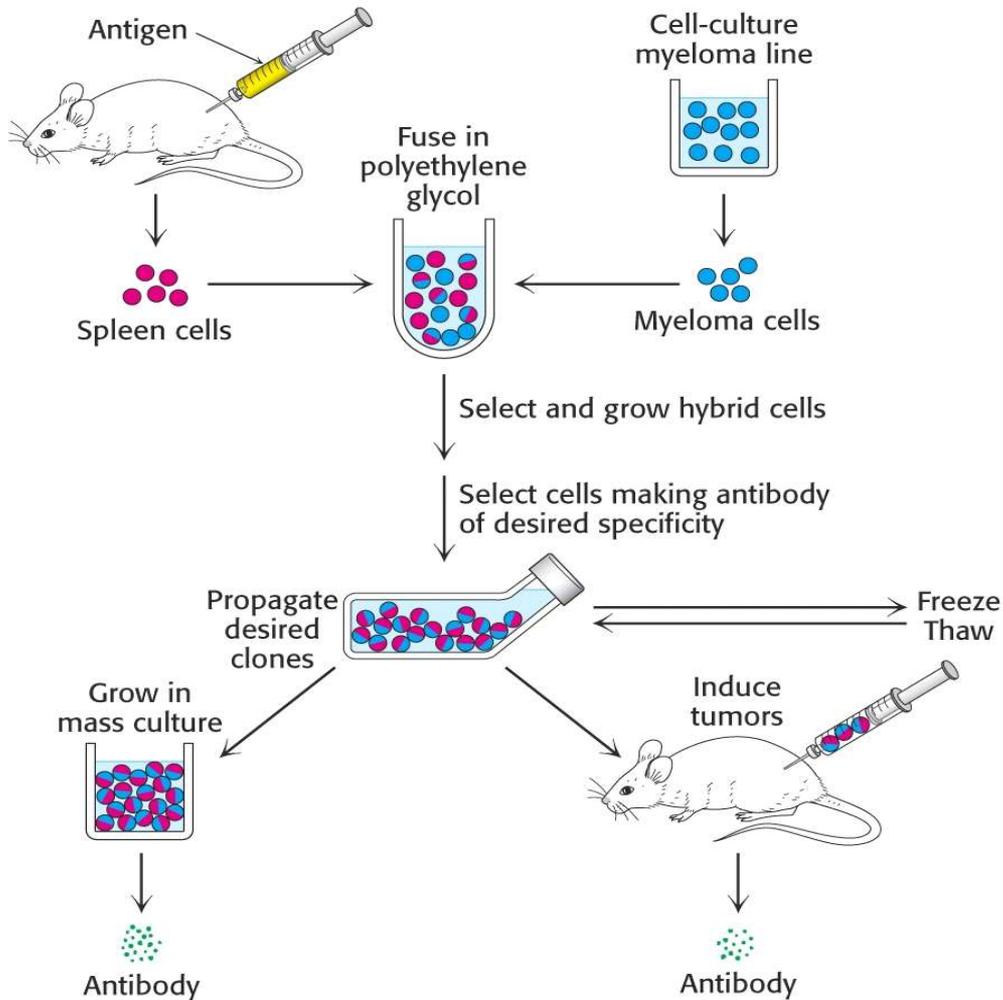


- Immunizzazione di un animale
- Aspettare la reazione immunitaria
- Estrarre gli anticorpi dal siero
- La selezione dell'animale dipende dalla quantità di anticorpi che si vogliono ottenere
- L'animale più utilizzato per la produzione di anticorpi è il coniglio che è relativamente semplice gestire in laboratorio e da cui si ottengono buone quantità di siero

- ✓ L'antigene deve essere in circolo per un periodo continuato di diverse settimane
- ✓ Le principali globuline ottenute sono IgM e IgG.

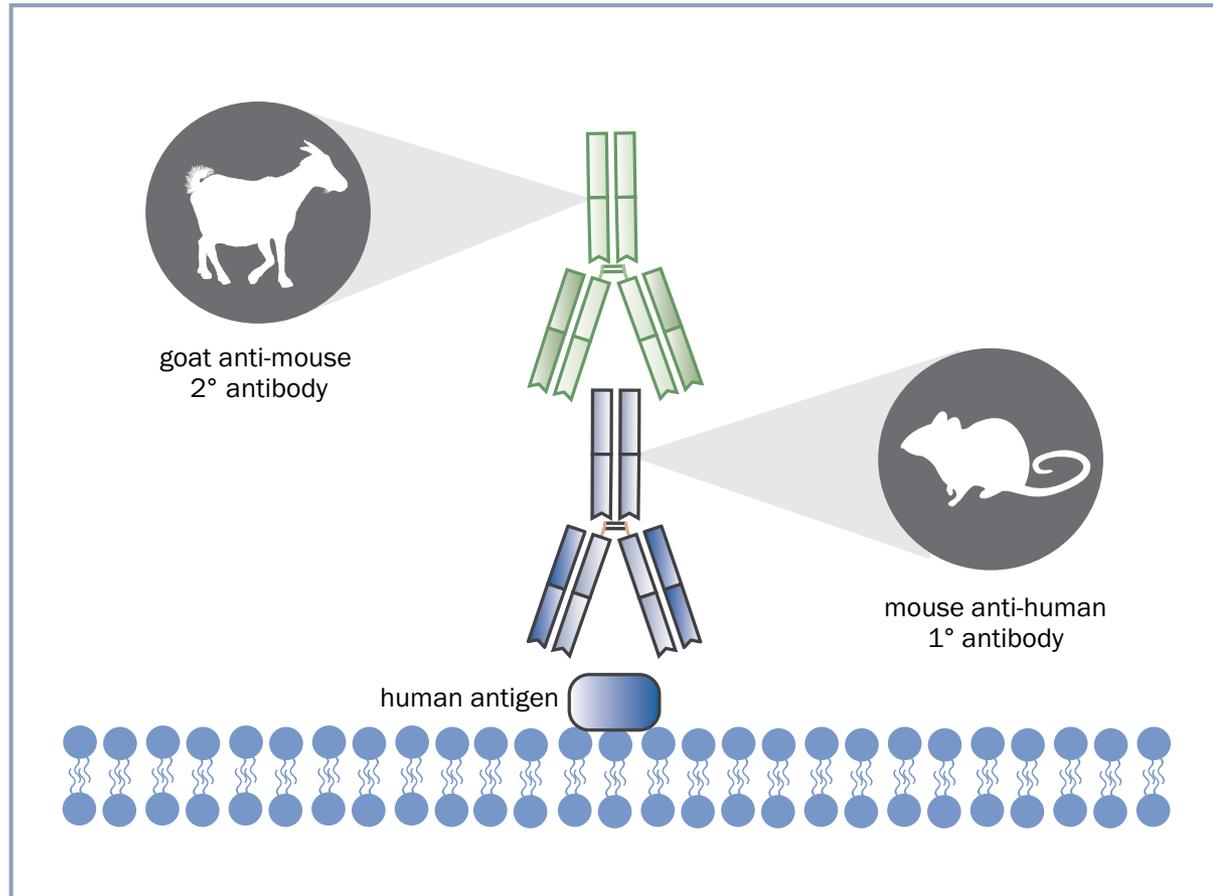
# Anticorpi monoclonali

## Produzione Anticorpo monoclonale



- ✓ Clone cellulare (ibridoma) ottenuto per fusione di un linfocita B con un cellula di mieloma
- ✓ Fusione in glicole polietilenico
- ✓ Coltura in terreno selettivo (crescono solo gli ibridomi)
- ✓ Ogni ibridoma secerne un anticorpo monospecifico
- ✓ Il processo di produzione richiede più tempo ed è più costoso

# Anticorpi Secondari

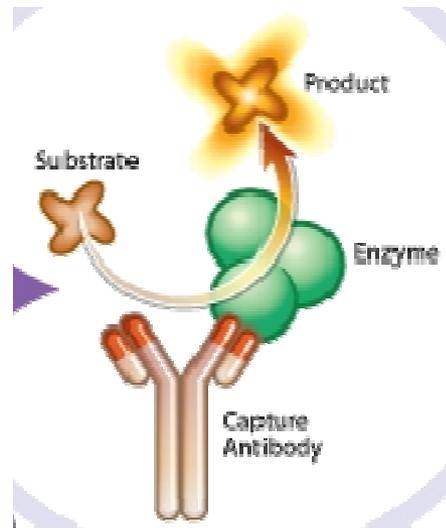


# ELISA

Stabilito il legame fra l'Antigene di interesse e l'Anticorpo specifico, non rimane che **rendere visibile e rilevabile oggettivamente** questa interazione.

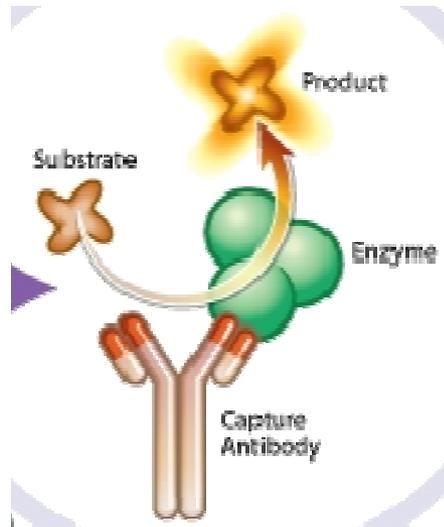
Per far ciò in immunochimica si utilizzano **anticorpi coniugati con enzimi** di rivelazione.

Fra questi, uno dei più utilizzati è la **perossidasi** insieme alla **fosfatasi alcalina**.



# Tipi di ELISA

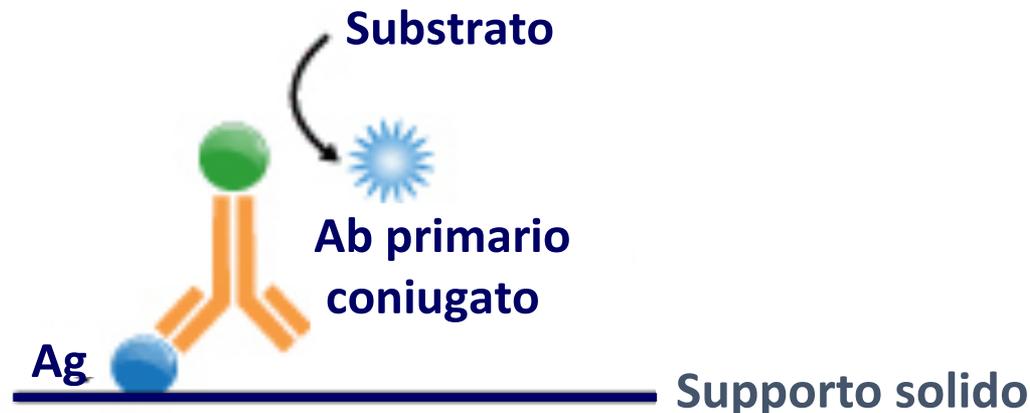
- ✓ DIRETTO (Anticorpo primario marcato)
- ✓ INDIRETTO (Anticorpo secondario marcato)
- ✓ COMPETITIVO
- ✓ SANDWICH ELISA DIRETTO
- ✓ SANDWICH ELISA INDIRETTO



# ELISA Diretto

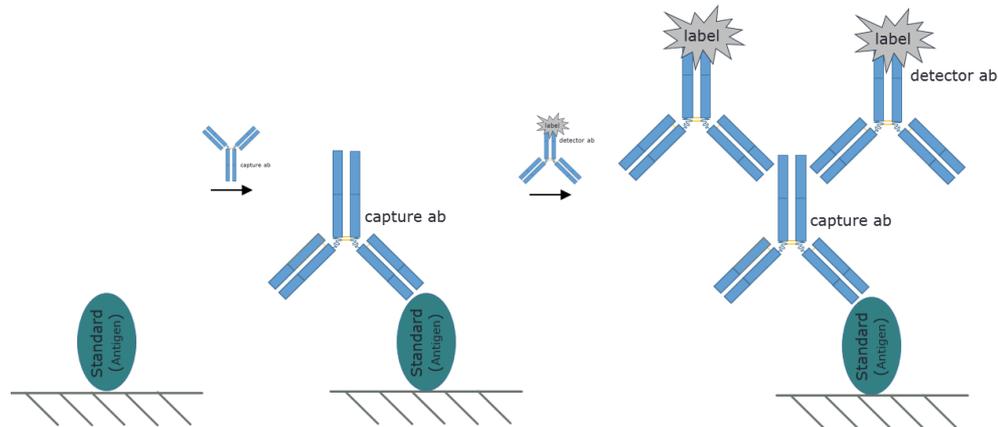
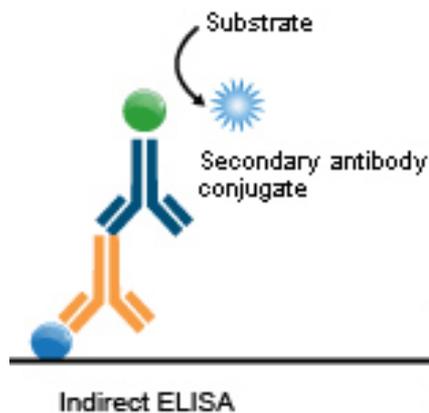
- Si individua e quantifica un antigene
- L'antigene è ancorato ad una superficie solida (pozzetto multiwell)
- Si fa reagire una soluzione di un anticorpo specifico (primario) marcato con un enzima
- Dopo aver lavato, si aggiunge il substrato dell'enzima. In questa tecnica, l'attività enzimatica misurata sarà direttamente proporzionale alla quantità di antigene presente.

Meno preciso ed efficiente tra tutti i tipi di ELISA



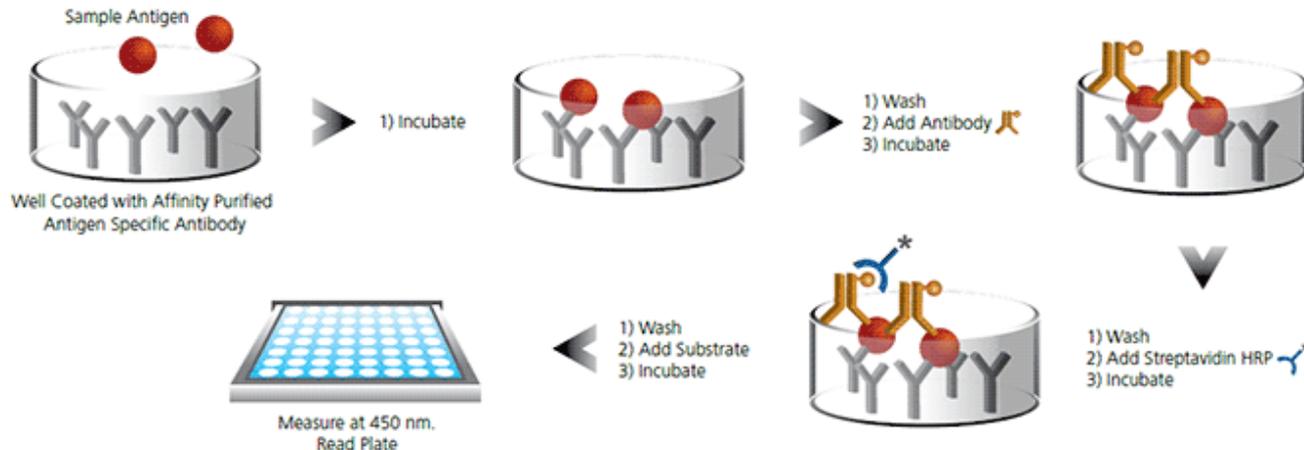
# ELISA indiretto

- Si individua e quantifica un anticorpo invece di un antigene
- L'antigene è ancorato ad una superficie solida (pozzetto multiwell)
- Si fa reagire una soluzione contenente l'anticorpo da quantificare (es. siero contenente IgG, anticorpo)
- Dopo aver lavato, si aggiunge un secondo anticorpo, secondario, che riconosce come antigene l'anticorpo IgG
- L'anticorpo secondario ha l'enzima legato
- Si lava di nuovo e si aggiunge il substrato dell'enzima: l'attività misurata sarà direttamente proporzionale alla quantità di anticorpo IgG presente nel siero originale.



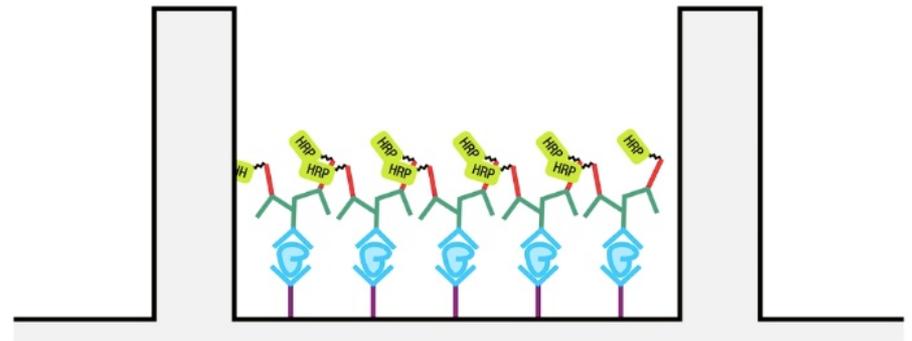
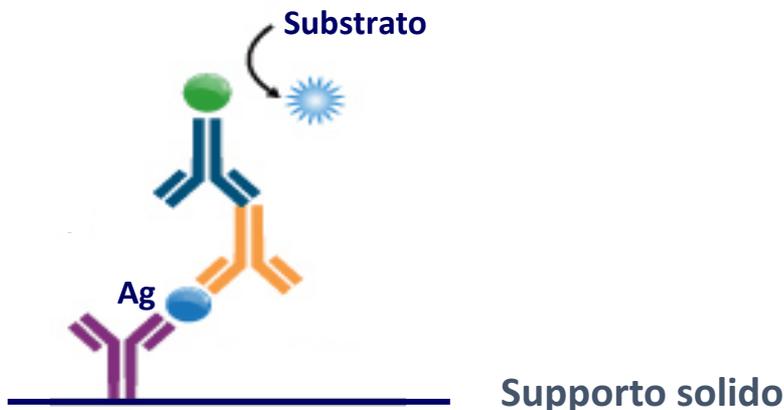
# Sandwich ELISA diretto

- La sostanza da determinare deve avere due siti antigenici (epitopo)
- Un eccesso di anticorpo (Ag) verso il primo sito antigenico è immobilizzato sul supporto solido
- Incubazione con il campione contenente l'antigene (Ag)
- Dopo il lavaggio, il complesso Ag-Ab formato e immobilizzato viene messo a contatto con il secondo anticorpo marcato con l'enzima che riconoscerà il secondo sito antigenico
- La misura del prodotto della reazione enzimatica risulterà direttamente proporzionale alla concentrazione dell'antigene da stimare



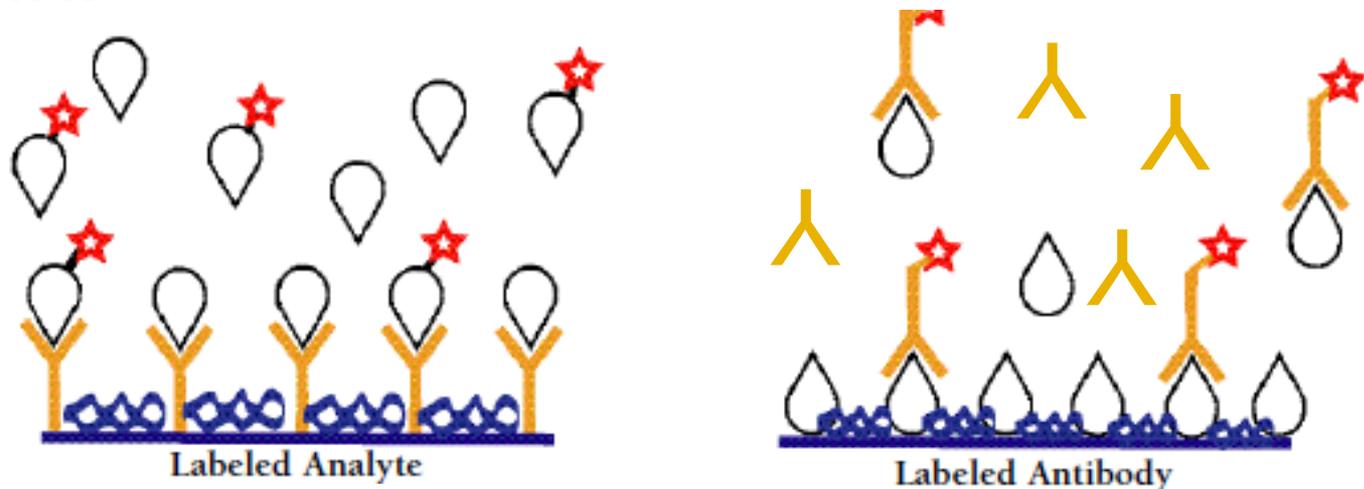
# Sandwich ELISA indiretto

- Un anticorpo specifico è legato al supporto solido
- Si fa reagire una soluzione ignota di antigene con l'anticorpo legato al supporto
- Si lava e si aggiunge un secondo anticorpo capace di riconoscere un diverso epitopo dell'antigene (policlonale o un monoclonale diverso da quello immobilizzato)
- Dopo un secondo lavaggio si aggiunge un terzo anticorpo, capace di legarsi al secondo e marcato con l'enzima
- Dopo opportuni lavaggi, viene aggiunto il substrato dell'enzima
- In questa tecnica, l'attività enzimatica misurata sarà direttamente proporzionale alla quantità di antigene presente



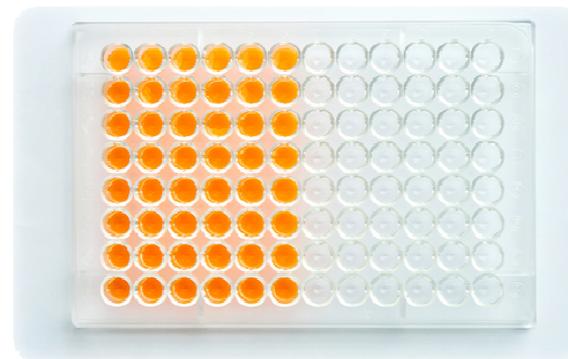
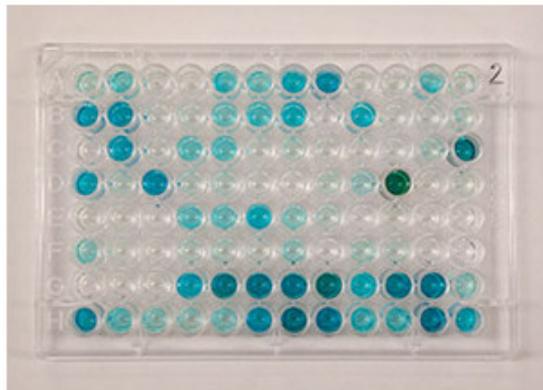
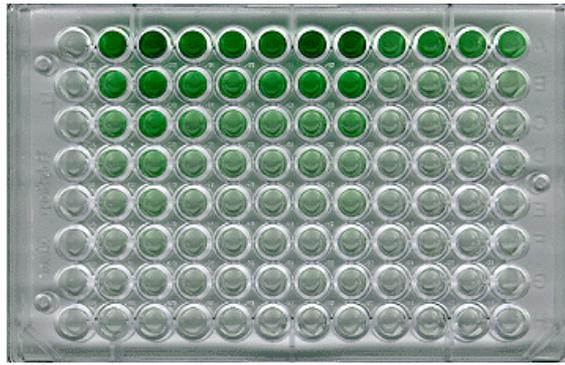
# ELISA competitivo

- Una quantità fissa di antigene marcato con l'enzima (o anticorpo marcato), e diluizioni decrescenti di antigene libero (come standard o nel campione) vengono messe a reagire insieme nei confronti di un anticorpo in difetto immobilizzato
- In questo modo, l'antigene marcato e quello libero si troveranno a competere per un numero limitato di siti anticorpali.
- Dopo aver lavato il complesso, si aggiunge il substrato per l'enzima e si misura l'attività enzimatica
- La concentrazione del prodotto enzimatico misurata risulterà inversamente proporzionale alla concentrazione dell'analita (antigene non marcato)



# ELISA

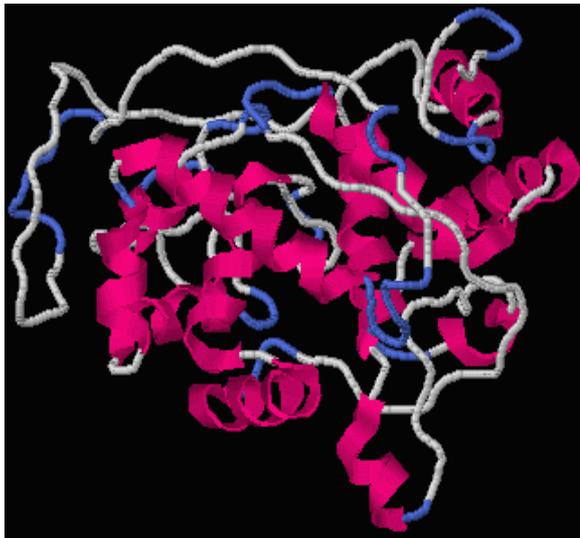
- Gli enzimi più usati sono la **perossidasi di rafano (HRP)** o la **fosfatasi alcalina (AP)**
- I substrati enzimatici dovrebbero essere idealmente stabili, non tossici e poco costosi: substrati non colorati sono convertiti in prodotti colorati
- La reazione viene stoppata con Acido solforico 0.16 M per stabilizzare il colore dopo alcuni minuti



# ELISA

- Gli enzimi più usati sono la **perossidasi di rafano (HRP)** o la **fosfatasi alcalina (AP)**
- I substrati enzimatici dovrebbero essere idealmente stabili, non tossici e poco costosi: substrati non colorati sono convertiti in prodotti colorati

## Perossidasi



Substrati: fenoli aromatici o ammine come donatori di idrogeni

ABTS: acido 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolin-6-sulfonico)



Prodotto finale **VERDE**

Meno sensibile rispetto ad altri substrati, ossidato più lentamente circa 20 minuti

TMB: 3,3',5,5'-tetrametilbenzidina  $\longrightarrow$  **BLU**  $\xrightarrow{+H_2SO_4}$  **GIALLO**

Il più comune, più facilmente ossidato

OPD: orto-fenildiammina  $\longrightarrow$  **GIALLO**



# ELISA

## Substrati fluorescenti consigliati per HRP

**Chemifluorescent ELISA substrates.** Horseradish peroxidase (HRP). Substrates for use with a fluorescent plate reader listed in order of increasing sensitivity.

Enzyme Conjugate	Thermo Scientific Product	Product #	Total Assays <sup>1</sup>	E <sub>max</sub> (E <sub>m</sub> ) A <sub>max</sub> (E <sub>x</sub> )	Detection Limit <sup>2</sup>	1° / 2° Ab dilution <sup>2</sup> (from 1 mg/ml stock)
HRP	QuantaBlu <sup>®</sup> Fluorogenic Substrate	15169	2,700 wells	420 nm 325 nm	500 fg/well [5 pg/ml]	1° 1: 500 2° 1: 5,000 - 1:20,000
HRP	QuantaBlu Kinetic Fluorogenic Substrate	15162	2,700 wells	420 nm 325 nm	500 fg/well [5 pg/ml]	1° 1: 500 2° 1: 5,000 - 1:20,000
HRP	QuantaRed <sup>®</sup> Enhanced Fluorescent Substrate	15159	1,000 wells	585 nm 570 nm	400 fg/well [4 pg/ml]	1° 1: 1,000 2° 1: 5,000 - 1:20,000

# ELISA

ALKALINE PHOSPHATASE



**Fosfatasi alcalina (AP)**  
Substrato: pNPP (para-nitrofenilfosfato)



**GIALLO**

# Confronto ELISA

## DIRETTO

### Vantaggi:

- veloce, solo un anticorpo usato;
- Nessuna reattività con anticorpi secondari

### Svantaggi:

- La reattività dell'anticorpo può essere influenzata dalla marcatura con l'enzima
- Non c'è molta scelta di anticorpi
- Bassa amplificazione

## INDIRETTO

### Vantaggi:

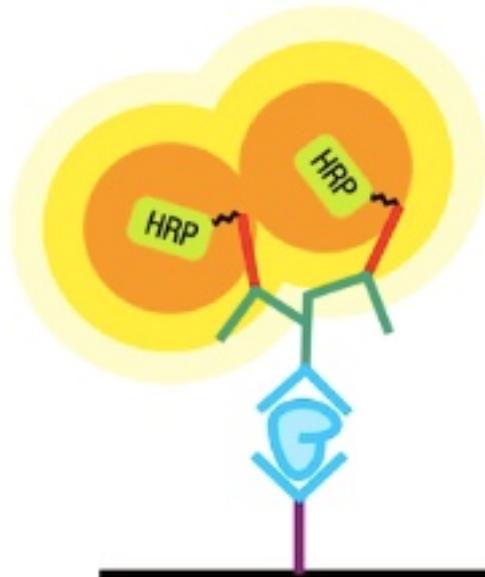
- grande varietà di anticorpi secondari marcati reperibili commercialmente
- massima reattività dell'anticorpo primario che non è marcato
- La sensibilità è aumentata perché ogni anticorpo primario contiene diversi epitopi che possono essere legati dall'anticorpo secondario marcato, consentendo l'amplificazione del segnale
- Diversi marcatori possono essere utilizzati con lo stesso anticorpo primario

### Svantaggi:

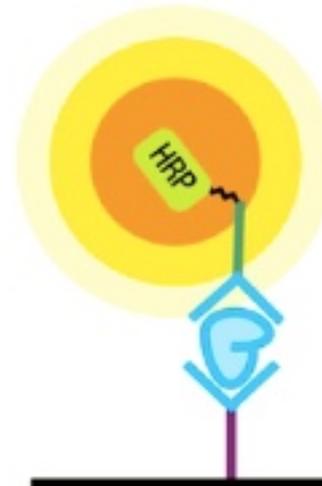
- Potrebbe verificarsi una reattività crociata con l'anticorpo secondario, con conseguente segnale non specifico
- Procedura più lunga

# Confronto ELISA

## Signal amplification



Indirect detection

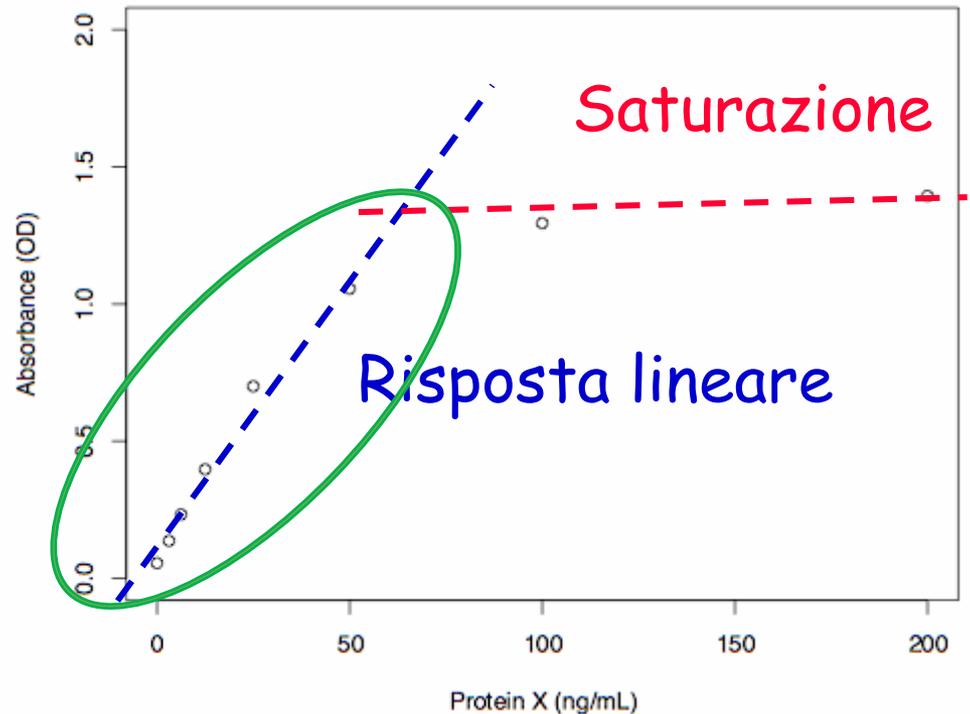


Direct detection

# Elaborazione dati ELISA

Curva di calibrazione

Calibrator (ng/ml)	Absorbance (OD)
200	1.9723
100	1.5683
50	1.1696
25	0.7609
12.5	0.4424
3.125	0.2429
0	0.056

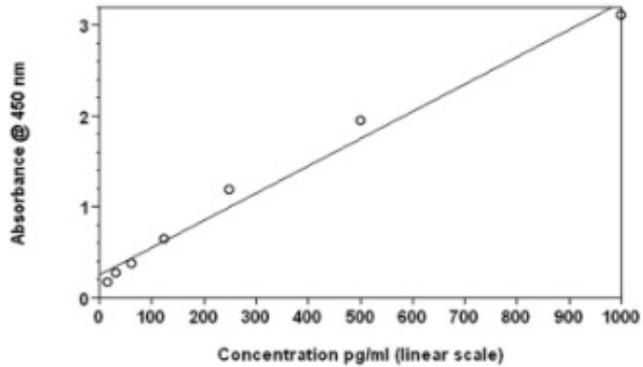
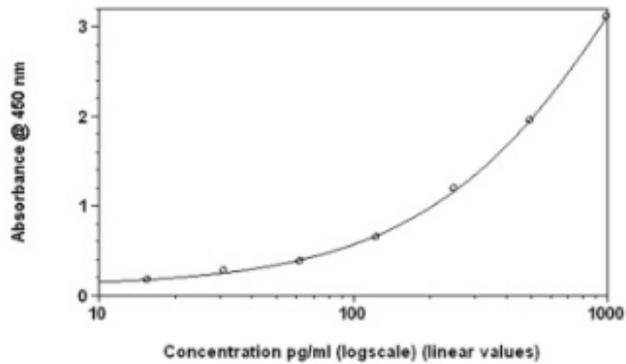


Se gli standard di taratura rimangono nella parte lineare i valori di concentrazione li possiamo ricavare per regressione lineare

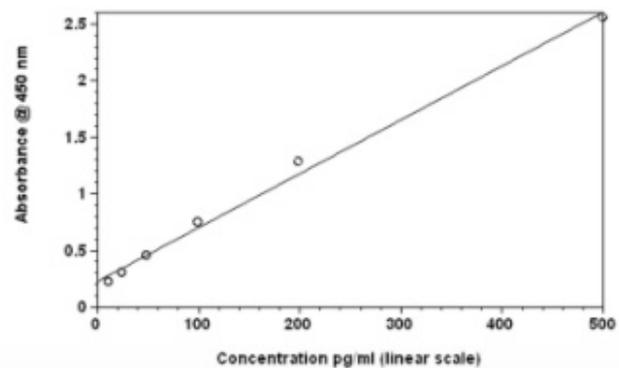
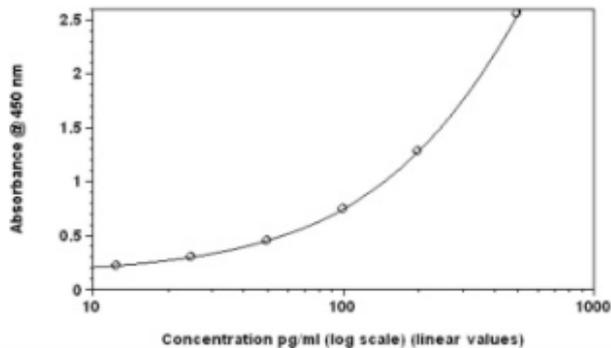
# Elaborazione dati ELISA

## Curva di calibrazione

Figures 1A (L) and 1B (R): Standard curves for [mouse IFN- \$\beta\$  ELISA](#) with 4-parameter fit (1A) and linear fit (1B).



Figures 2A (L) and 2B (R): Shows the same data set plotted with four-parameter curve fit.



# Elaborazione dati ELISA

## Curva di calibrazione

**Table 1:** The backfitted concentrations calculated with 4-parameter fit and linear fit for points on the standard curve for [mouse IFN- \$\beta\$  ELISA](#)

Actual Concentration (pg/ml)	Mean OD @ 450 nm	4-Parameter fit		Linear fit	
		Backfit Concentration (pg/ml)	% Difference: Backfit and Actual Concentration	Backfit Concentration (pg/ml)	% Difference: Backfit and Actual Concentration
15.625	0.167	14.75	2.48	-27.05	278.84
31.25	0.268	35.86	14.75	6.59	78.91
62.5	0.374	58.72	6.05	41.90	32.96
125	0.645	120.42	3.66	132.16	5.73
250	1.186	258.74	3.50	312.26	24.90
500	1.943	494.51	1.10	564.52	12.90
1000	3.112	1001.53	0.15	954.01	4.60

# Kit ELISA

