



Koronatyöohje

Kohderyhmä: Lukio KE03

Kesto: 60–75 min

Motivaatio: Opiskelet laboratorioanalytiikkaa ja sinut on kutsuttu avuksi tutkimaan potilasnäytteitä. Potilailta on otettu nenänielunäyte. Tehtävänäsi on tutkia, onko näytteessä COVID-19-viruksen anti-geeniä eli sairastaako potilas koronaa.

Tavoite: Työssä tutustutaan, miten kemian osaamista voidaan hyödyntää pandemian leviämisen estämiseksi ja samalla kehitetään laboratoriotaitoja

Reagenssit

- 100 ml 10 x PBS (Phosphate Buffer Saline)
- 4,5 ml 10 % Tween 20
- 990 ml tislattua tai ionivaihdettua vettä
- 1,5 ml TMB (HRP-entsyymin substraatti)
- antigeeni (Antigen Chicken Gamma-Globulin 25 µg, Lyophilized)
- primäärinen vasta-aine (Primary Antibody Rabbit Anti-Chicken, Lyophilized)
- sekundaarinen vasta-aine (Secondary Antibody Goat Anti-Rabbit Antibody-HRP, Lyophilized)

HUOM! SÄILYÄ ANTIGEENI- JA VASTA-AINELIUKOKSET SEKÄ HRP (ENTSYYMIN SUBSTRAATTI) JÄÄKAAPISSA. HRP PITÄÄ SUOJATA MYÖS VALOLTA!

Tarvikkeet

- 12-kennoinen mikrokennolevy
- pipettejä
- Finnpiipetti 20–200 ml
- 2 lasisauvaa
- mittalaseja 100–1000 ml
- dekantterilaseja
- 3 kpl 50 ml lasisia mittapulloja
- 6 kpl erivärisiä pieniä näyteputkia
- tussi näytteiden merkitsemistä varten

TYÖTURVALLISUUS JA JÄTTEIDEN KÄSITTELY

Suojatakki, -lasit ja hanskat.

10 x PBS (Phosphate Buffer Saline): Roiskeet silmiin huuhdeltava huolellisesti runsaalla vedellä vähintään 15 minuutin ajan, nostaen ala- ja yläluomia. Otettava yhteys lääkäriin. Iho pestään saippualla ja vedellä. Mikäli esiintyy ihon ärsytystä tai allergisia reaktioita on käytävä lääkäriin. Suu huuhdellaan perusteellisesti vedellä.

Tween 20: Huolehdittava raittiin ilman saannista. Iholle saatuna, riisu saastunut vaatetus välittömästi. Huuhdo/suihkuta iho vedellä. Tuotteen jouduttua silmiin, huuhdeltava runsaalla vedellä. Poistettava piilolasit. Jos tuotetta on nieltä, annettava altistuneelle välittömästi vettä juotavaksi (korkeintaan kaksi lasillista). Jos oireita esiintyy, ota yhteys lääkäriin.

Antigeeni (Chicken Gamma-Globulin 25 µg), primäärinen vasta-aine (Rabbit Anti-Chicken) ja sekundaarinen vasta-aine (Goat Anti-Rabbit Antibody-HRP): Huolehdittava raittiin ilman saannista. Jos ainetta joutuu silmiin, huuhtelee silmiä luomet auki heti juoksevan veden alla useita minuutteja. Jos ainetta joutuu suuhun, huuhtelee suu vedellä ja ota yhteys lääkäriin. Mikäli ainetta niellään on otettava yhteys lääkäriin.

Antigeeni (Chicken Gamma-Globulin 25 µg): Kontakti happojen kanssa, voi aiheuttaa myrkyllisten kaasujen vapautumista.

Jäte lievästi vesistöä vaarantava, ei saa päästää viemäristöön.



Pohdittavaksi ennen työtä

Koronaan, koronan vaikutuksiin ja koronan oireisiin suositellaan perehdyttävän jo edellisellä tunnilla tai ennen työn suorittamista, jotta työn tekemisestä syntyisi mahdollisimman mielekäs kokemus oppilaille. Koronaan voi tutustua opettajan ohjastuksella tai oppilaat voivat omatoimisesti etsiä tietoa. Mikäli alkuun pääsyn kanssa tulee ongelmia, voidaan seuraavia linkkejä käyttää hyödyksi:

<https://thl.fi/fi/web/infektiotaudit-ja-rokotukset/ajankohtaista/ajankohtaista-koronaviruksesta-covid-19/tilannekatsaus-koronaviruksesta> , <https://covid19.who.int> ja <https://www.hs.fi/aihe/koronavirus/>

1. Mikä on oma oppimistavoitteesi COVID-19 työhön liittyen?
2. Tee hypoteesi siitä, onko näytteen antaneilla henkilöillä koronatartunta
3. Täytä puuttuvat sanat tekstin joukkoon

Terveen potilaan ELISA-testin viimeisessä vaiheessa liuoksen väri on *väritön* ja sairaan potilaan *sininen*. Terveen potilaan nenäsivelynäytteestä puuttuu *antigeeni*, minkä vuoksi *primäärinen vasta-aine* ei pysty kiinnittymään kennoihin. Sen vuoksi myöskään *sekundaarinen vasta-aine* ja *substraatti* eivät reagoi keskenään työn viimeisessä vaiheessa ja väri *ei* muutu/muuttuu. Sairaana potilaan näytteessä on *antigeenia* mikä kiinnittyy ensimmäisenä kennoihin. Edelliseen kiinnittyy *primäärinen vasta-aine* ja tähän *sekundaarinen vasta-aine*. Viimeiseksi lisätty *substraatti* reagoi tai on reagoimatta, ja tästä saamme selville ELISA-tentin tuloksen.

4. Mikä on COVID-19?

COVID-19 on koronavirus, joka aiheuttaa hengitystiesairauden.

5. Millä menetelmillä COVID-19-tartuntaa voidaan testata ja mihin se perustuu?

COVID-19-tartuntaa voidaan testata verikokeen tai nenänielusivelyn avulla. Verikokeessa erotellaan verestä seerumi ja seerumista määritetään sisältääkö se COVID-19 vasta-aineita. Nenänielusivelyn näytteestä tutkitaan suoraan COVID-19 antigeeniä.

6. Mitä tarkoittaa antigeeni, vasta-aine, entsyymi ja substraatti?

Antigeeni on molekyyli, joka saa aikaan elimistössä immuunivasteen.

Vasta-aine on valkuaisaine, eli proteiini, jonka immuunijärjestelmä tuottaa tietyn antigeenin havaittua.



Entsyymi on valkuaisaine, joka toimii elimistön katalyyttinä, eli nopeuttaa elimistössä tapahtuvia reaktioita. Entsyymit ovat spesifejä, eli tietty entsyymi pystyy nopeuttamaan vain tiettyä reaktiota.

Substraatti on aine/molekyyl, jonka reaktiota entsyymi nopeuttaa. Muodostuu entsyymi-substraatti-kompleksi, jonka vuoksi sitoutunut substraatti muuttuu toiseksi aineeksi.

7. Mikä on ELISA-menetelmä?

ELISA (Enzyme-linked immunosorbent assay) eli entsyymivälitteinen immunosorbenttimääritys. Menetelmää käytetään selvitystyössä, sisältääkö näyte tiettyä immunologista ainetta.

8. Mitä muita viruksia ELISA-menetelmällä voidaan tutkia?

HIV-1 (ihmisen immuunikatovirus), HTLV-1 (human T-cell leucemia), adenovirus, sytomegalovirus, FIV (kissan immuunipuutos) ja lintuinfluenssa.

9. Voidaanko ELISA-menetelmällä tutkia muita kuin virustartuntoja?

Kyllä, voidaan tutkia, esiintyykö elimistössä esimerkiksi autoimmuunisairauksia, sydänmerkkiaineita, syövän merkkiaineita, ruoansulatuskanavan sairauksia, immunologiaa, hormoni merkkiaineita, lääkkeitä, kemikaaleja, ruoan turvallisuutta, myrkyjä jne.

10. Nimeä TMB:n funktionaaliset ryhmät

TMB:ssä on kaksi bentseenirengasta, neljä metyyliryhmää ja kaksi aminoryhmää.

11. Selitä mitä orgaanisten yhdisteiden hapettuminen ja pelkistyminen tarkoittaa?

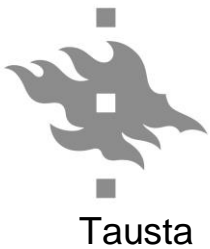
Orgaanisen yhdisteen hapettuminen on reaktio, jossa vähenee vety- ja/tai lisääntyy happiatomi. TMB:n hapettuessa molekyylistä vähenee kaksi vetyatomia. Käänteinen reaktio on pelkistysreaktio.

Hapettimena voi toimia esimerkiksi happi, kaliumpermanganaattiliuos tai kaliudikromaattiliuos.

Aina, kun yksi aine hapettuu, toisen aineen pitää pelkistyä. Hapetin on aine, joka reaktion aikana pelkistyy ja pelkistin on aine, joka reaktion aikana hapettuu.

12. Mitä kompleksit ovat?

Kompleksit ovat molekyylejä, jotka koostuvat keskusatomista tai -ionista ja sen ympärillä olevista molekyyleistä, ioneista tai atomeista.



Tausta

COVID-19 on joulukuussa 2019 löydetty, oletettavasti Kiinasta lepakoista peräisin oleva koronavirus, joka on lähtenyt leviämään maailmanlaajuisesti. COVID-19 luokitellaan pandemiaksi, koska se on levinnyt kaikkialle ympäri maailmaa. Tällä hetkellä ei ole vielä mitään lääkettä, hoitamaan COVID-19 tartuntaa, kuin oheislääkkeet, jotka lieventävät kipua ja kuumetta. Taudin oireisiin kuuluvat kuume, yskä, hengenhädistys, lihaskivut, väsymys, nuha, pahoinvointi ja ripuli.

ELISA-menetelmä on nopea ja helppo tapa saada selville, onko joku tietty viruksen läsnäoloon viittaava proteiini tutkittavassa näytteessä. Nopeus ja helppous tulee esille siinä, ettei näytettä tarvitse pilkkoa geielektroforeesia varten, vaan menetelmä perustuu proteiinien ominaisuuteen sitoutua helposti muovipintaan.

ELISA-menetelmiä on erilaisia, riippuen onko näytteessä viruksen antigeeniä vai vasta-ainetta. Koronavirustartunnan mahdollisuutta voidaan tutkia verikokeen tai nenänielunäytteen avulla. Verikokeessa tutkitaan sisältääkö veren seerumi koronaviruksen vasta-aineita ja nenänielunäytteestä tutkitaan suoraan viruksen antigeeniä. Tässä työssä tutkitaan COVID-19-viruksen antigeenin läsnäoloa nenänielusivelynäytteestä. Työssä viruksen antigeeni kiinnittyy muovisiin kennoihin, jos potilaalla on koronavirustartunta. Antigeeni kiinnittyy muovisiin kennoihin automaattisesti, kun kennot ovat valmistettu oikeanlaisesta muovista. Kiinnityksen jälkeen kennot huudellaan niin, että vain kiinnittyneet antigeenit jäävät kennoon.

Kennoihin lisätään seuraavaksi koronaviruksen vasta-ainetta. Mikäli potilaan nenänielunäytteessä oli antigeeniä, vasta-aineet sitoutuvat kennoissa kiinnittyneisiin antigeeneihin ei-kovalenttisillä sidoksilla. Ei-kovalenttisiin sidoksiin kuuluvat esimerkiksi Van der Waalsin voima ja vetysidokset. Kennojen sisältö huuhdellaan ja kennoihin jää jäljelle antigeeni-vasta-ainekompleksi tai kennot jäävät tyhjäksi, mikäli potilaan näyte ei sisällä COVID-19 antigeeniä.

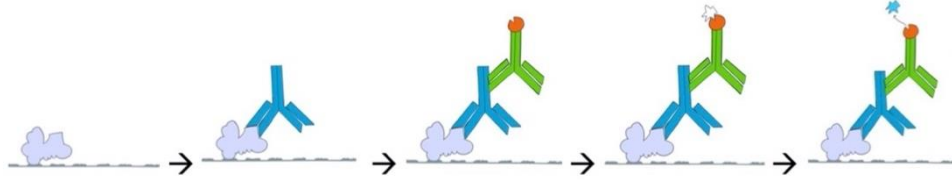
Tarvitaan vielä toista vasta-ainetta, että saadaan selville sisältääkö seerumi COVID-19 vasta-ainetta. Toinen vasta-aine on nimeltään ilmaisain vasta-aine tai sekundäärinen vasta-aine. Ilmaisain vasta-aineella on kyky ilmaista, mikäli antigeeni-vasta-ainekompleksi löytyy kennoista. Ilmaisain vasta-aine sitoutuu COVID-19 vasta-aineeseen, mikäli sellainen löytyy kennosta. Jälleen kennot huudellaan, jotta kennoihin jää jäljelle vain kiinnittyneet molekyylit/kompleksit.

Ilmaisain vasta-aineeseen on liitetty piparjuuriperoksidaasi entsyymi, johon ilmaisu perustuu. Viimeiseksi kennoihin lisätään TMB substraattia, eli yhdistettä, jonka ilmaisain vasta-aineeseen liitetty entsyymi voi muuttaa. Tässä työssä entsyymi muuttaa substraatin niin, että liuoksen väri muuttuu siniseksi.

Työssä aina ensimmäisenä kiinnitetään antigeenit kennoihin. Kiinnittymätön antigeeni huuhdellaan pois ja tämän jälkeen lisätään vasta-ainetta. Mikäli sivelynäytteessä on COVID-19 antigeeniä sitoutuvat vasta-aineet antigeeneihin. Tapahtuu huuhtelu ja ilmaisain vasta-ainetta lisätään. Ilmaisain vasta-aineet sitoutuvat antigeeni-vasta-ainekompleksiin. Tapahtuu huuhtelu ja kennoihin lisätään substraattia. Koska kennoihin on



muodostunut antigeeni-vasta-aine-ilmaisoin vasta-ainekompleksi, substraatti muuttuu nesteessä ja nesteen väri vaihtuu siniseksi.



Kuva 1. kuvaa mitä vaiheita ELISA-menetelmässä tapahtuu, mikäli näytteessä on läsnä koronavirusantigeeniä. Kuvassa liila = antigeeni, sininen = primäärinen vasta-aine, vihreä = sekundaarinen vasta-aine, oranssi = entsyymi, valkoinen = lisätty substraatti

Mikäli kyseessä on potilas, jolla ei ole COVID-19 tartuntaa, kennoihin ei kiinnity ollenkaan antigeeniä. Kennot huuhdellaan ja tämän jälkeen lisätään vasta-ainetta. Koska sivelynäytteessä ei ole COVID-19 antigeeniä ei vasta-aine pysty sitoutumaan mihinkään kiinni. Tapahtuu huuhtelu ja ilmaisoin vasta-ainetta lisätään. Ilmaisoin vasta-aineet eivät pysty sitoutumaan mihinkään, koska antigeeni-vasta-ainekompleksi puuttuu. Tapahtuu huuhtelu ja kennoihin lisätään substraattia. Koska kennoihin ei ole muodostunut antigeeni-vasta-aine-ilmaisoin vasta-ainekompleksia, mikään ei ole muuttamassa substraattia nesteessä ja nesteen väri ei muutu.

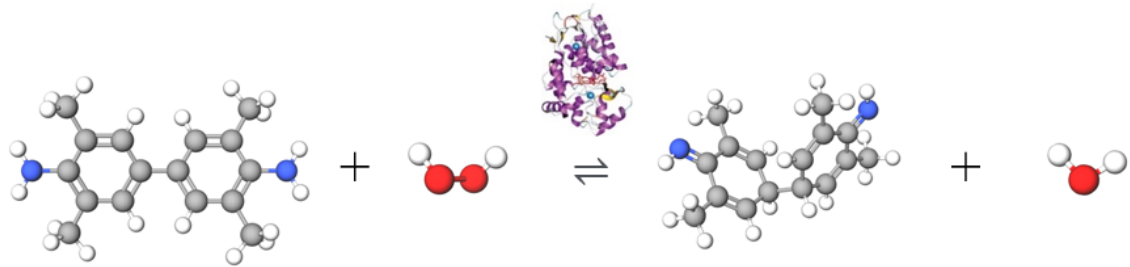


Kuva 2. kuvaa mitä vaiheita ELISA-menetelmässä tapahtuu, mikäli näytteessä ei ole läsnä koronavirusantigeeniä. Kuvassa sininen = primäärinen vasta-aine, vihreä = sekundaarinen vasta-aine, oranssi = entsyymi, valkoinen = lisätty substraatti

ELISA-menetelmää käytetään sekä virologian kokeellisessa että diagnostisessa työssä. Menetelmä on erittäin herkkä, joka pystyy havaitsemaan proteiinit picomolaarisella (10^{-12} M) – nanomolaarisella (10^{-9} M) alueella. ELISA-menetelmä on käytetyin tutkimusmuoto monien vierasperäisten tautien diagnosoinnissa, kuten HIV-1 (ihmisen immuunikatovirus), HTLV-1 (human T-cell leucemia), adenovirus ja sytomegalovirus.



Piparjuuriperoksidaasi entsyymin ja TMB substraatin välinen reaktioyhtälö:



piparjuuriperoksidaasi

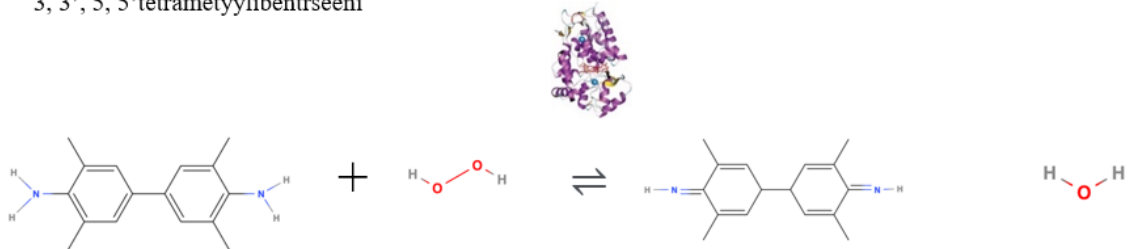
TMB eli
3, 3', 5, 5'tetrametyylibentseeni

+ vetyperoksidi

⇌

hapettunut TMB

+ vesi





Tarina

Opiskelet laboratorioanalytiikkaa ja sinut on kutsuttu avuksi tutkimaan potilasnäytteitä. Potilailta on otettu nenänielunäyte. Tehtävänäsi on tutkia, onko näytteessä COVID-19-viruksen antigeeniä eli sairastaako potilas koronaa. Sinä olet vastuussa testituloksista ja näin ollen taudin leviämisen estämisestä.

Ryhmänä teidän tehtävänne on selvittää, ketkä näistä kuudesta henkilöstä on saanut koronavirustartunnan. Potilaat on nimetty A-G kirjaimilla, ettei heidän identiteettinsä paljastu. Yksi pari saa tutkittavakseen kaksi näytettä.

Potilaan A oireet: Pitkään kestänyt päänsärky, lihaskivut ja yskiminen.

Potilaan B oireet: Kurkkukipu aamuisin herätessä.

Potilaan C oireet: Oireeton.

Potilaan D oireet: Päänsärky ja hän tietää olleensa altistunut taudille.

Potilaan E oireet: Oireeton, mutta tarvitsee testituloksen työtehtävää varten.

Potilaan F oireet: Oireeton.

Potilaan G oireet: Huomannut, että urheillessa hänen suorituskäytöksensä on laskenut.

Kokeellinen osio / Työn suoritus

OPETTAJAN ESIVALMISTELUT:

1. Valmista puskuriliuokset. Voit käyttää mittalasia mittauksiin.

- 1 x PBS, 100 ml

- Mittaa mittalasia 90 ml tislattua vettä ja lisää se dekantterilasiin
- Mittaa myös 10 ml 10 x PBS –liuosta mittalasia ja lisää myös se samaan dekantterilasiin
- Sekoita lasisauvaa apuna käyttäen.

- Pesuliuos 900 ml

- Mittaa Finnpiipetellä 4,5 ml 10 % Tween 20 –liuosta ja lisää se dekantterilasiin
- Mittaa mittalasia 90 ml 10 x PBS –liuosta ja lisää se myös dekantterilasiin.
- Mittaa isolla mittalasia 805 ml tislattua vettä ja lisää se dekantterilasiin.



- d. *Sekoita lasisauvalla.*
2. *Valmistelevä antigeeni, primäärinen vasta-aine ja sekundäärinen vasta-aine.*
- e. *Poista varovaisesti stopperit reagenssien purkkien päältä ja lisää jokaiseen purkkiin 0,5 ml valmistamaasi 1 x PBS –puskuriliuosta. Voit käyttää muovista kertakäyttöistä pipettiä, joita on tullut paketin mukana.*
HUOM! ÄLÄ KÄYTÄ PESUPUSKURIA TÄSSÄ VAIHEESSA!
- f. *Sulje stopperit ja ravistele.*
3. *Laimennetaan valmistettuja antigeeni-, primäärinen vasta-aine sekä sekundäärinen vasta-aine –liuoksia 50 ml pulloihin. (HUOM! Liuoksen tilavuudeksi tulee 25ml)*
- *1 x puhdistettu antigeeni*
ÄLÄ KÄYTÄ MITÄÄN, MIKÄ SISÄLTÄÄ TWEEN 20
 - a. *Mittaa kohdassa 2 avatusta purkista 0,5 ml antigeeniliuosta Finnpi-
petellä ja lisää se 50 ml pulloon. (Siirrä siis 2. kohdassa liuotettu an-
tigeeni mittapulloon)*
 - b. *Mittaa mittalasilla 24,5 ml 1 x PBS –liuosta*
 - c. *Ota pipetillä osa mittaamastasi 1 x PBS –liuoksesta ja huuhtelevä anti-
geenin purkkia useampi kerta pulloon. Kaada myös huuhtelun jälkeen
ylijäänyt 1xPBS liuos mittapulloon.*
 - d. *Sulje ja sekoita.*
 - *1 x seerumi*
 - a. *Mittaa kohdassa 2 avatusta purkista 0,5 ml primääristä vasta-ainetta
Finnpipetellä ja lisää se 50 ml pulloon. (Siirrä siis 2. kohdassa liu-
otettu primäärinen vasta-aine mittapulloon)*
 - b. *Mittaa mittalasilla 24,5 ml pesuliuosta*
 - c. *Ota pipetillä osa mittaamastasi pesuliuoksesta ja huuhtelevä seerumin
purkkia useampi kerta pulloon. Kaada myös huuhtelun jälkeen ylijää-
nyt 1xPBS liuos mittapulloon.*
 - d. *Sulje ja sekoita.*
 - *1 x sekundäärinen vasta-aine*
**HUOM! VALMISTAJAN OHJEEN MUKAAN LIUOS TULEE OLLA
VALMISTETTU ENINTÄÄN 24 h ENNEN KÄYTTÖÄ. Käytössä on kui-
tenkin todettu, että oikein säilytettynä liuos toimii vielä huomattavasti
paljon kauemminkin, useita kuukausia.**
 - a. *Mittaa kohdassa 2 avatusta purkista 0,5 ml sekundääristä vasta-ai-
netta Finnpi-
petellä ja lisää se 50 ml pulloon. (Siirrä siis 2. kohdassa
liuotettu sekundäärinen vasta-aine mittapulloon)*
 - b. *Mittaa mittalasilla 24,5 ml pesupuskuri*



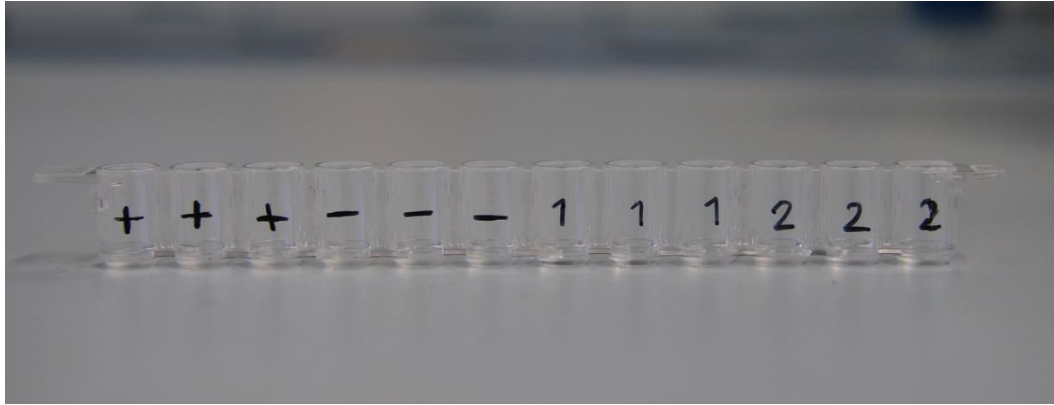
- c. Ota pipetillä osa mittaamastasi pesuliuksesta ja huuhtelee seerumin purkkia useampi kerta pulloon. Kaada myös huuhtelun jälkeen ylijäänyt 1xPBS liuos mittapulloon.
- d. Sulje ja sekoita.
4. Lisää näytteet pieniin värikkäisiin näyteputkiin pipetoimalla (käytä eri puhtaita pipettejä, ettei näytteet sekoitu)
- Violetti = 0,5 ml positiivinen kontrolli (antigeeni, potilaat A, C, D ja G)
 - Sininen = 0,5 ml negatiivinen kontrolli (pesuliuos, potilaat B ja F)
 - Keltainen = tutkittavat (lisää joko antigeenia tai pesuliusta, oppilaat tutkivat kumpi on kyseessä)
 - Vihreä = 1,5 ml primaarinen vasta-aine
 - Oranssi = 1,5 ml sekundäärinen vasta-aine
 - Ruskea = 1,5 ml HRP (entsyymin substraatti)
5. Työvälineet ja kaikki työssä käytettävät reagenssit tulisi jakaa oppilaspareille valmiiksi paikoilleen, ettei niiden etsiminen vie uuden menetelmän oppimiselta huomiota ja oppilaat pystyvät keskittymään työn käytännön suoritukseen paremmin. Työssä tulee todennäköisesti paljon uusia työvälineitä ja reagensseja, mitkä eivät ole ennestään oppilaille tuttuja. Huomioitavaa myös, ettei yhdellekään ryhmälle sattuisi kaksi koronavirustartunnalle negatiivista potilasta.

OPPILAAN OHJE:

1. Merkitse näyteputket (ks. kuva).
- Violetti = 0,5 ml positiivinen kontrolli
 - Sininen = 0,5 ml negatiivinen kontrolli
 - Keltainen = tutkittavat näytteet
 - Vihreä = 1,5 ml primäärinen vasta-aine
 - Oranssi = 1,5 ml sekundäärinen vasta-aine
 - Ruskea = 1,5 ml HRP (entsyymin substraatti)



2. Merkitse kennot: + + + - - - 1 1 2 2 2.



3. Lisää positiivisiin kennoihin 50 µl positiivista kontrollinäytettä (VIOLETTI).
4. Lisää negatiivisiin kennoihin 50 µl negatiivista kontrollinäytettä (SININEN).
5. Lisää kennoihin, missä lukee 1, 50 µl ensimmäistä näytettä (KELTAINEN 1).
6. Lisää kennoihin, missä lukee 2, 50 µl toista näytettä (KELTAINEN 2).
7. Odota 5 minuuttia. (Oppilaille on hyvä painottaa odotuksen tärkeyttä.)
8. Kallista ja taputa ylimääräinen, kennoihin kiinnittymätön liuos pois paperille.
9. Pese kennot pesuliuksella täyttämällä jokainen kenno melkein täyteen. Kiinnitä huomiota, etteivät kennojen sisällöt pääse sekoittumaan pesun aikana. Älä siis täytä kennoja liian täyteen. Taputtele kennot tyhjäksi käsipaperille. Älä taputa samaan kohtaan paperia kahta kertaa, ettei näytteet sekoitu. Toista pesu ja taputtelu vielä kerran. (Kannattaa painottaa oppilaille huolellisuutta, ettei tule virheellisiä tuloksia, jos näytteet sekoittuvat.)
10. Lisää primääristä vasta-ainetta (VIHREÄ) pipetillä 50 µl kaikkiin kennoihin.
11. Odota 5 minuuttia.
12. Pese kennot pesuliuksella täyttämällä jokainen kenno melkein täyteen. Kiinnitä huomiota, etteivät kennojen sisällöt pääse sekoittumaan pesun aikana. Älä siis täytä kennoja liian täyteen. Taputtele kennot tyhjäksi käsipaperille. Älä taputa samaan kohtaan paperia kahta kertaa, ettei näytteet sekoitu. Toista pesu ja taputtelu vielä kerran.
13. Lisää sekundääristä vasta-ainetta (ORANSSI) pipetillä 50 µl kaikkiin kennoihin.
14. Odota 5 minuuttia.
15. Pese kennot pesuliuksella täyttämällä jokainen kenno melkein täyteen. Kiinnitä huomiota, etteivät kennojen sisällöt pääse sekoittumaan pesun aikana. Älä siis täytä



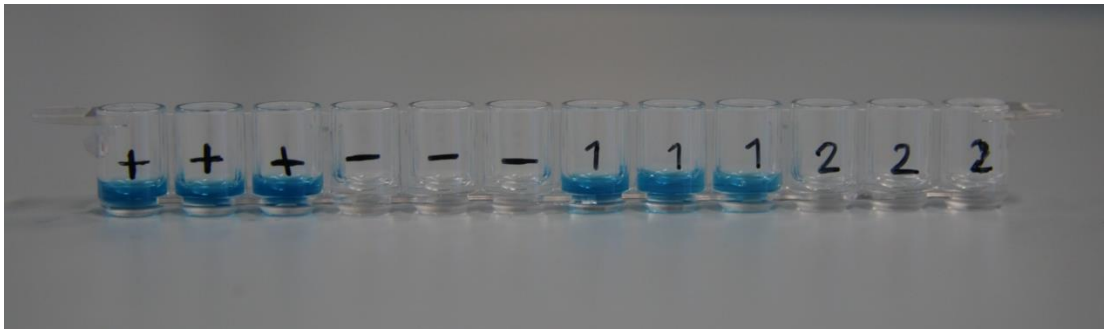
kennoja liian täyteen. Taputtele kennot tyhjäksi käsipaperille. Älä taputa samaan kohtaan paperia kahta kertaa, ettei näytteet sekoitu. Toista pesu ja taputtelu vielä **KAKSI KERTAA**.

16. Lisää HRP entsyymien substraattia (RUSKEA) pipetillä 50 µl kaikkiin kennoihin.

17. Odota 5 minuuttia.

18. Havainnoi! Mitä tapahtui? Onko potilaalla koronatartunta?

(Substraatti muuttuu siniseksi, mikäli entsyymiä on läsnä eli potilaalla on COVID19-virustartunta, ks. kuva)



Pohdinta työn jälkeen

Lue artikkeli:

<https://www.aamulehti.fi/koronavirus/art-2000007485324.html>

Pohdi seuraaviin kysymyksiin vastauksia artikkelin ja nettiä käyttäen:

1. Mitä eroa on koronaviruksen antigeenitestillä ja PRC-testillä?

Antigeenitesti etsii viruksen pintaproteiineja eli viruksen antigeeniä ja PRC-testi osoittaa viruksen perimää. PRC-testi on herkempi tapa todeta virus näytteestä kuin antigeenitesti.

2. Mitä yhteistä antigeenitestillä ja PRC-testillä on?

Molempiin testeihin näyte otetaan nenänielusta.

3. Mitä koronatestin herkkyys ja tarkkuus tarkoittavat?

Testin herkkyys tarkoittaa kuinka suuren osan koronapositiivisten henkilöiden positiivisista näytteistä testi toteaa positiiviseksi, eli antaa oikean tuloksen. Alhaisen herkkyyden testi antaa siis useammin negatiivisen tuloksen näytteille, jotka ovat todellisuudessa positiivisia.

Testin tarkkuudella tarkoitetaan sitä, kuinka oikea testituloks on, eli kuinka usein se antaa tulokseksi väärän positiivisen tai väärän negatiivisen tuloksen.

Lisäksi vastatkaa seuraaviin kysymyksiin työhön liittyen:



4. Jos potilas sai tekemästänne ELISA-testistä negatiivisen tuloksen, voiko hänellä silti olla tartunta? Perustele.

Niin kuin edellisestä artikkelista opittiin, negatiivisen tuloksen saanut henkilö voi silti olla saanut koronavirustartunnan. Näytteistä tehtiin kuitenkin kolme verrannaisnäytettä väärän negatiivisen tuloksen poissulkemiseksi.

5. Mikä vaihe on kriittisin ELISA-testiä tehdessä?

Kriittisimmät vaiheet ovat, kun uutta reagenssia lisätään ja odotetaan sen reagoivan, kun oppilas tekee työn muuten tarkkoja kemiallisia menetelmiä käyttäen.

6. Miksi kennot pestiin joka vaiheen välillä?

Kennot pestiin jokaisen reagenssin lisäyksen jälkeen, jotta ei reagoinut aines poistuisi kennosta, eikä saataisi väärä positiivisia tuloksia.

7. Arvioi oma teorian osaaminen ELISA-työhön liittyen

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
---	---	---	---	---	---	---	---	---	----

1 = Erittäin huono 10 = Erittäin hyvä

8. Arvioi oma käytännön osaaminen ELISA-työhön liittyen

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
---	---	---	---	---	---	---	---	---	----

1 = Erittäin huono 10 = Erittäin hyvä

9. Arvioi miten pääsit asettamaasi oppimistavoitteeseen

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
---	---	---	---	---	---	---	---	---	----

1 = Erittäin huonosti 10 = Erittäin hyvin

10. Arvioi miten paljon opit tämän työn kautta kemiaa

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
---	---	---	---	---	---	---	---	---	----

1 = Erittäin vähän 10 = Erittäin paljon

Työn jälkeen

Työn tehneet jaetaan 4 hengen ryhmiin, niin että kaksi työtä tehnyttä paria yhdistetään. Jokaisen ryhmän tehtävänä on opettaa haluamallaan tavalla muille oppilaille yksi COVID-19n kemiaan liittyvistä aiheista sekä esitellä heidän saatuja tuloksia ja johtopäätöksiä. Opetuksen pituuden ei tarvitse olla pitkä. COVID-19ssä tulee esille esimerkiksi seuraavat aiheet: atomien väliset sidokset, molekyylien funktionaaliset ryhmät, entsyymien vaikutus reaktioon, värinmuutos reaktiot ja uusien laboratoriovälineiden käyttö.



Lähteet

<https://www.virology.ws/2010/07/16/detection-of-antigens-or-antibodies-by-elisa/>
<https://thl.fi/fi/web/infektiotaudit-ja-rokotukset/ajankohtaista/ajankohtaista-koronaviruksesta-covid-19/materiaalipankki-koronaviruksesta/koronavirus-selkokielella>
<https://www.immunodiagnostic.fi/tutkimus/elisat-ja-assayt/>
<https://www.creative-diagnostics.com/ELISA-Kits.htm>
<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0031942203006551> piparjuuri-peroksidaasi kuva
Reaktioyhtälöt mallinnettu molview.org sivustolla



Kemianluokka
Gadolin