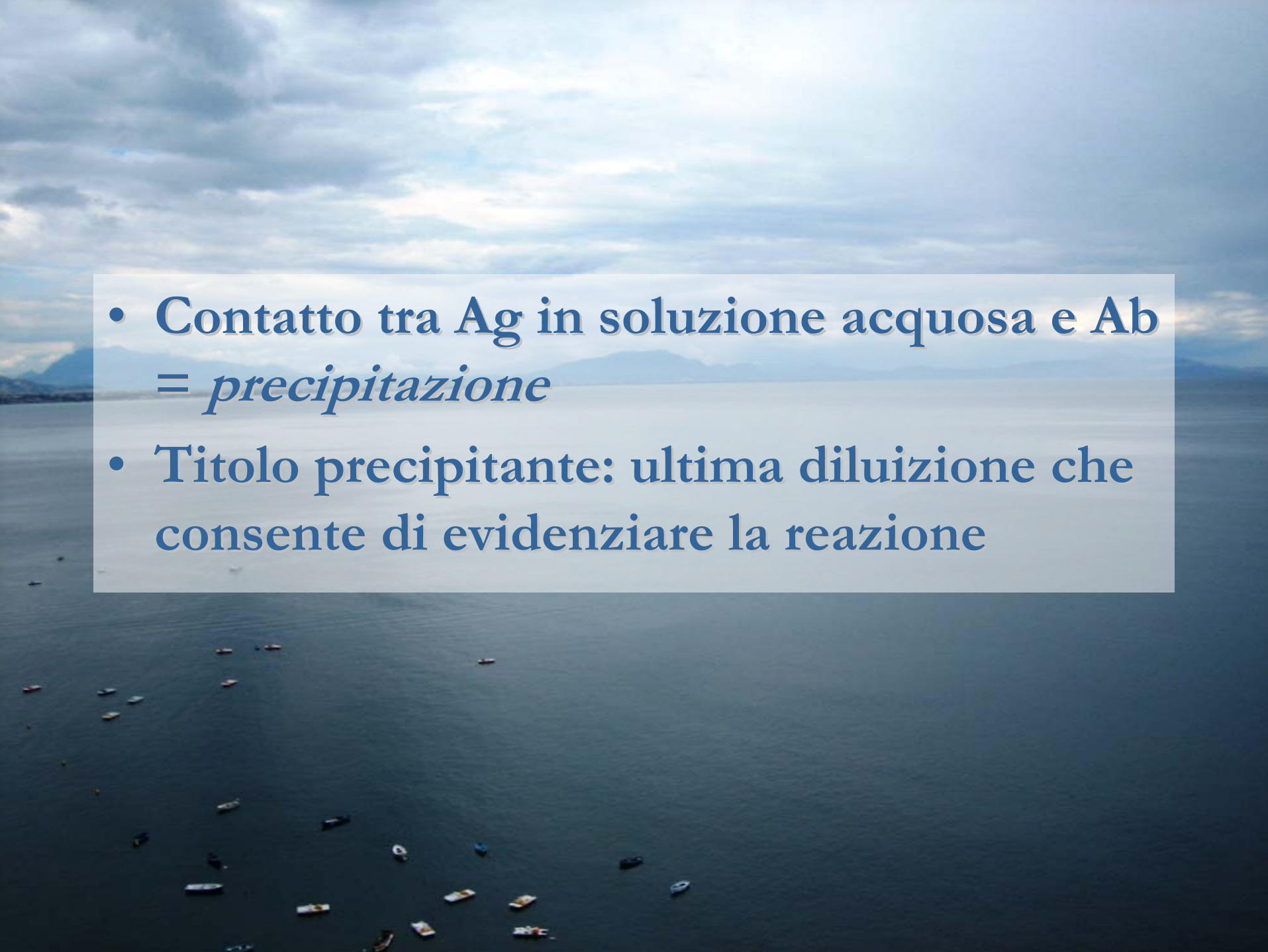
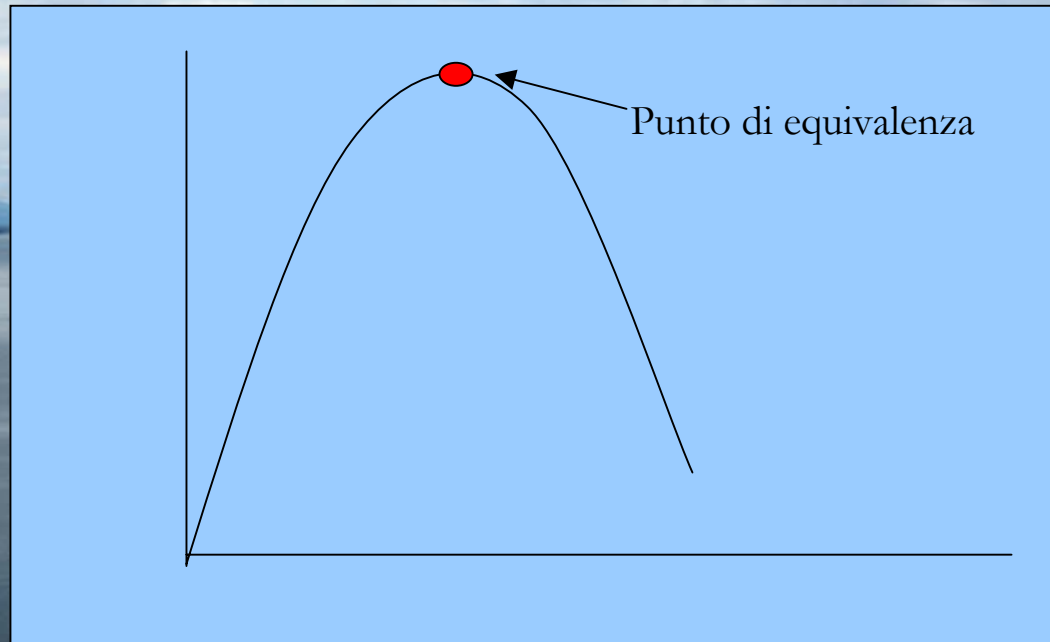


PROVE DI PRECIPITAZIONE



- 
- Contatto tra Ag in soluzione acquosa e Ab
= *precipitazione*
 - Titolo precipitante: ultima diluizione che consente di evidenziare la reazione

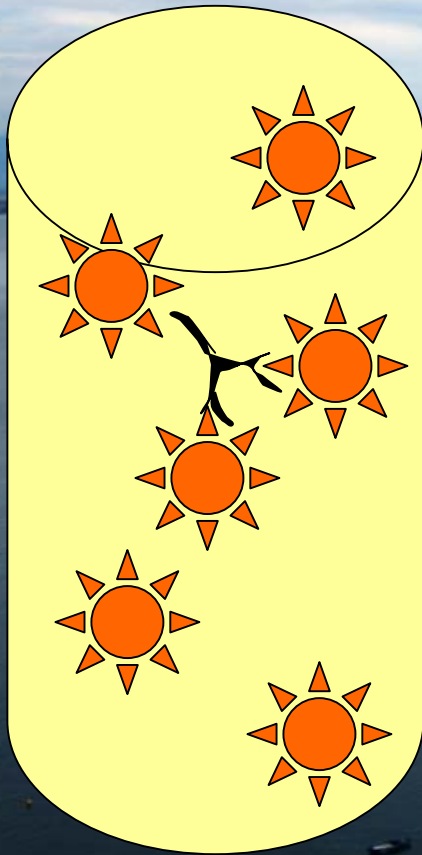
Fenomeno paradossoso (*fenomeno di zona*)



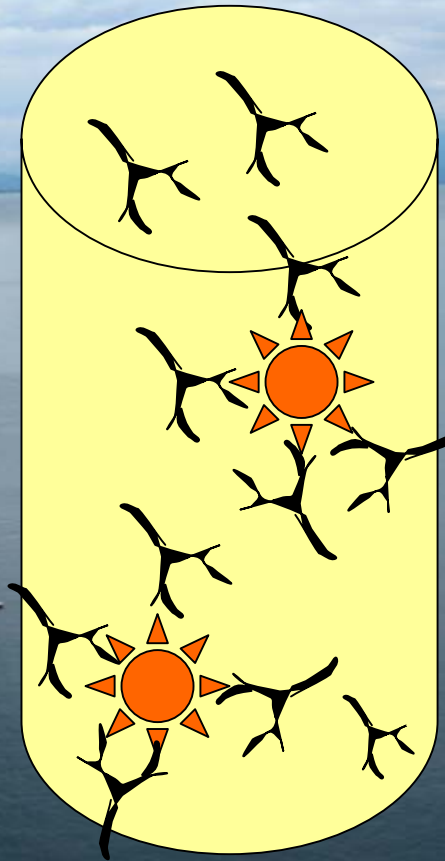
- **Optimal ratio** = miscela equivalente (utilizzo reciproca e completa di tutto l'antigene e tutto l'anticorpo); Proporzione Ag-Ab che dà luogo alla maggiore reattività
- Equivalenza : assenza di residui di Ag o Ab

Teoria del reticolo

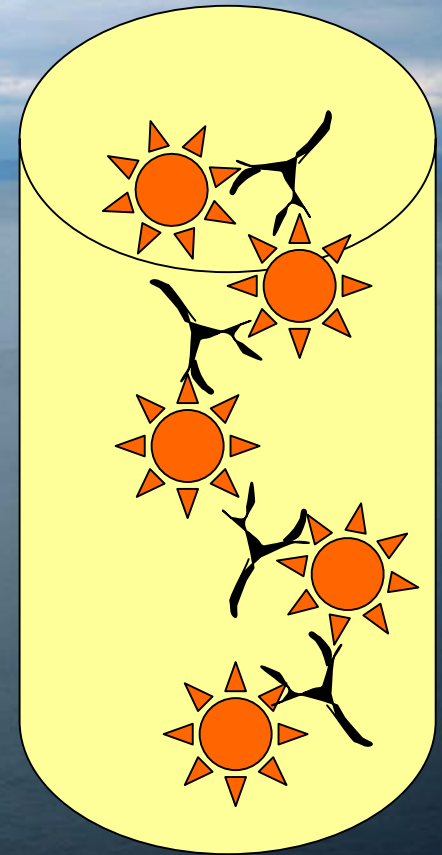
(Marrack)



Eccesso di Ag



Eccesso di Ab



Zona di equivalenza

Prove di precipitazione

- **Precipitazione in provetta**
- **Precipitazione in gel di agar:**
 - **gel-diffusione doppia bidimensionale**
 - **gel-diffusione radiale**
 - **immunolettroforesi**

Precipitazione in gel di agar o altri substrati

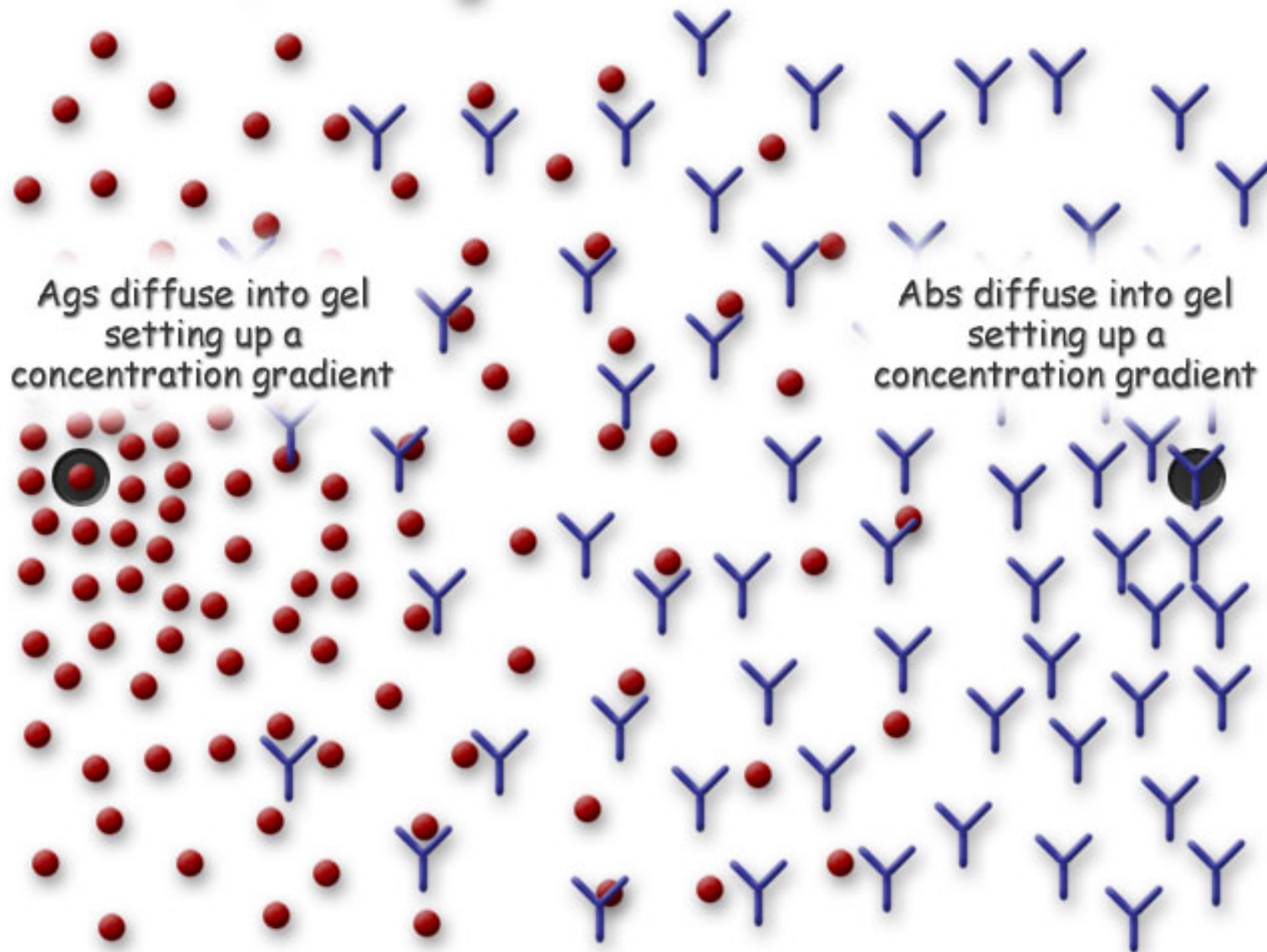
- Diffusione di Ag e/o Ab in un substrato e reazione di precipitazione nel punto in cui si incontrano in concentrazione ottimale
- Formazione di bande di precipitazione
- Substrati: agar, agarosio, amido, membrane di cellulosa gelatinizzata



Ag
added
to well



Ab
added
to well

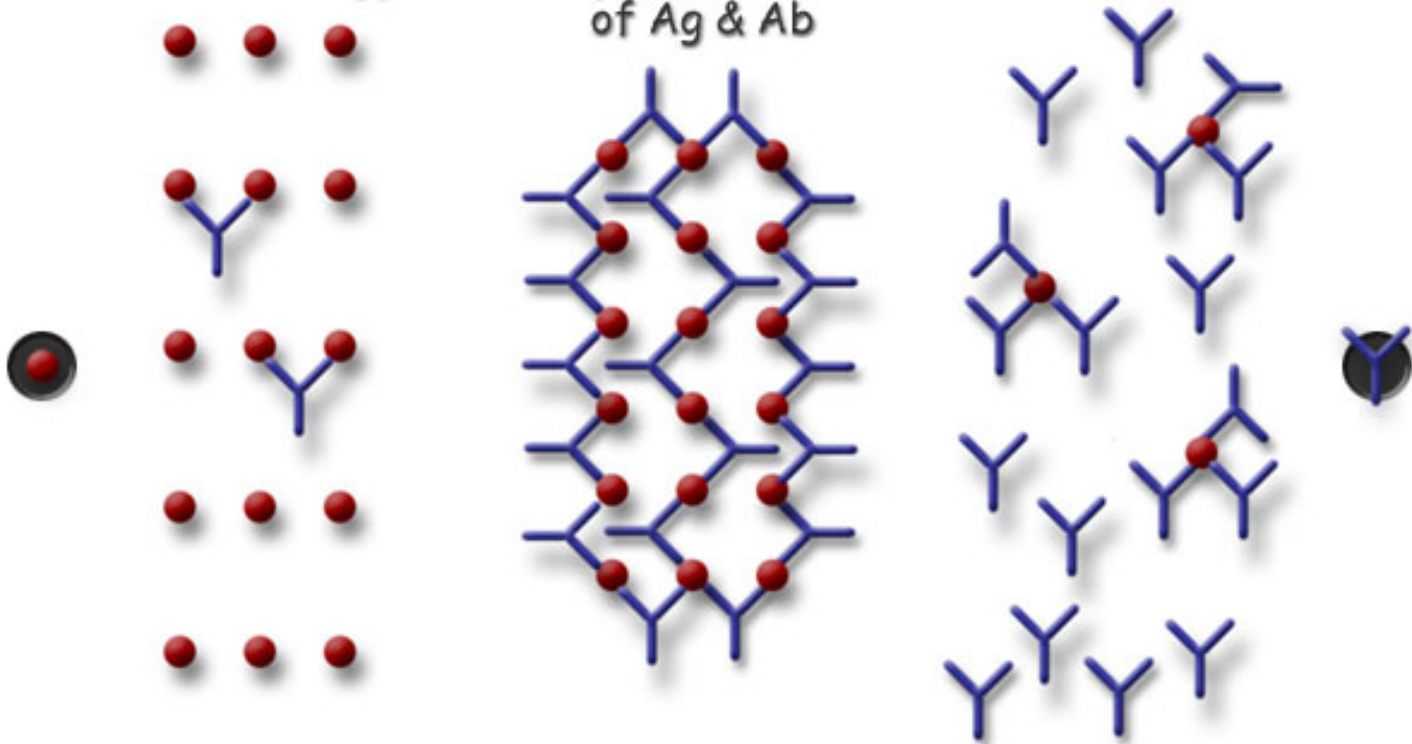


Ags diffuse into gel
setting up a
concentration gradient

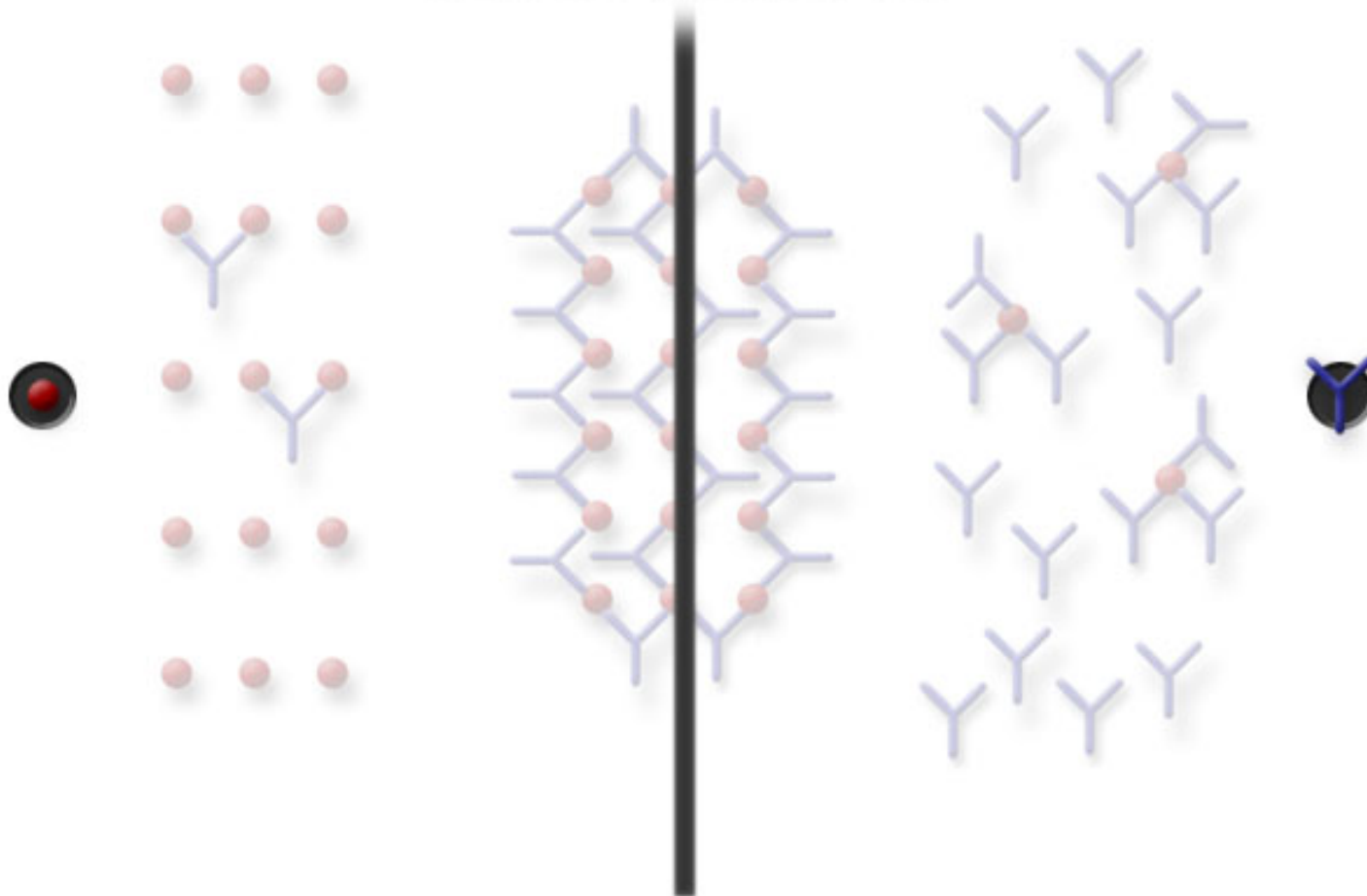
Abs diffuse into gel
setting up a
concentration gradient

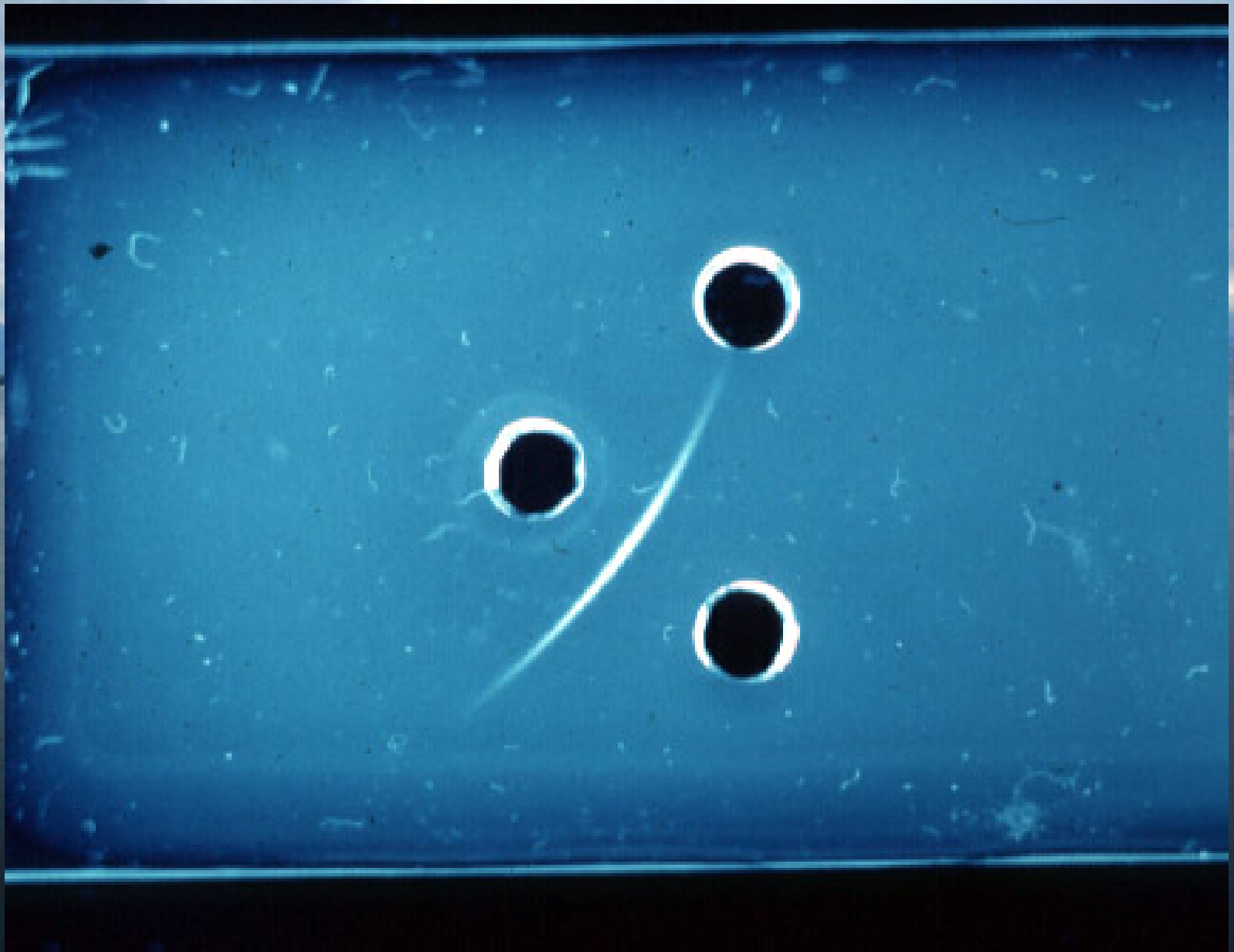
Ags & Abs combine

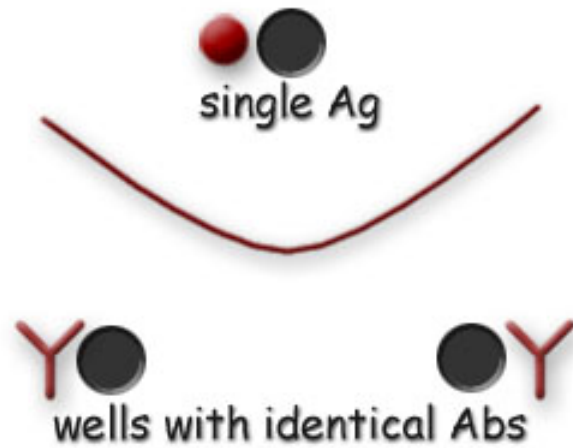
large aggregates form
at approximately equimolar concentrations
of Ag & Ab



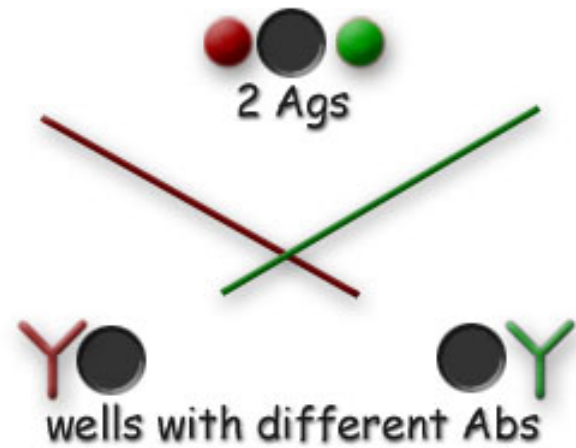
precipitation of large Ag:Ab aggregates
forms the "precipitin" line





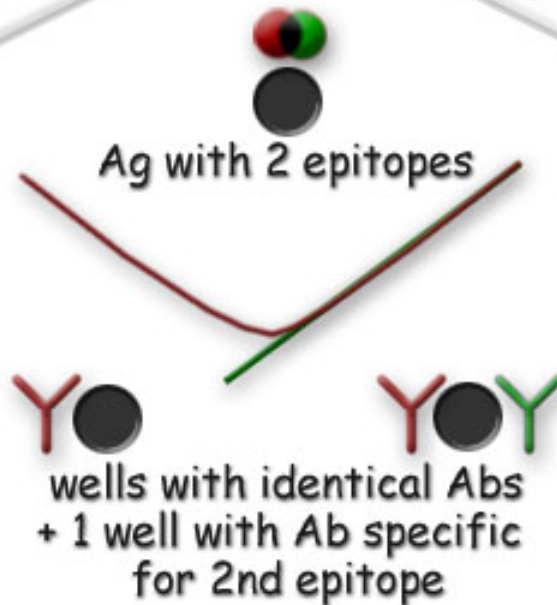


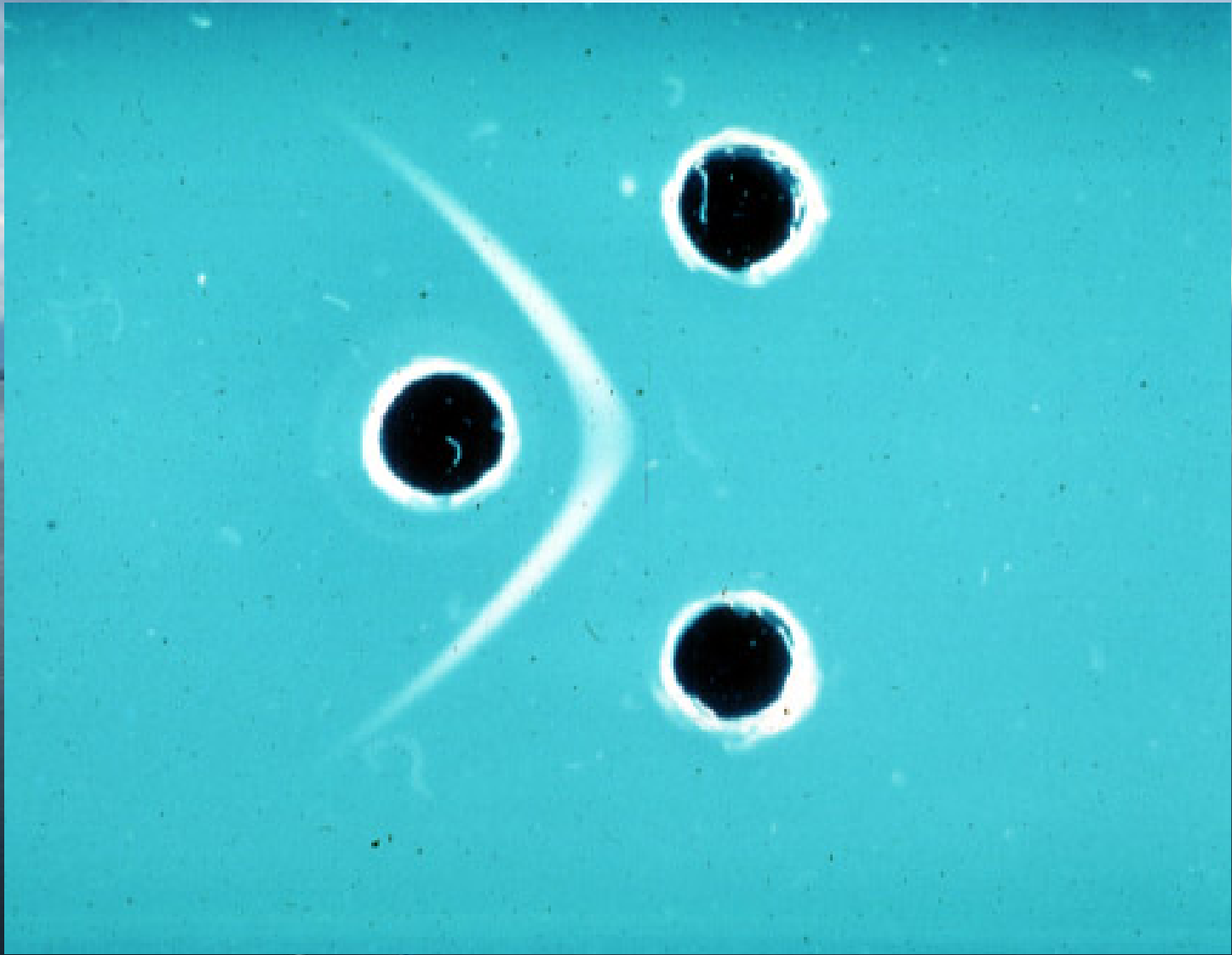
**LINES OF
IDENTITY**



**LINES OF
NON-IDENTITY**

**LINES OF
PARTIAL
IDENTITY**





Linea di identità

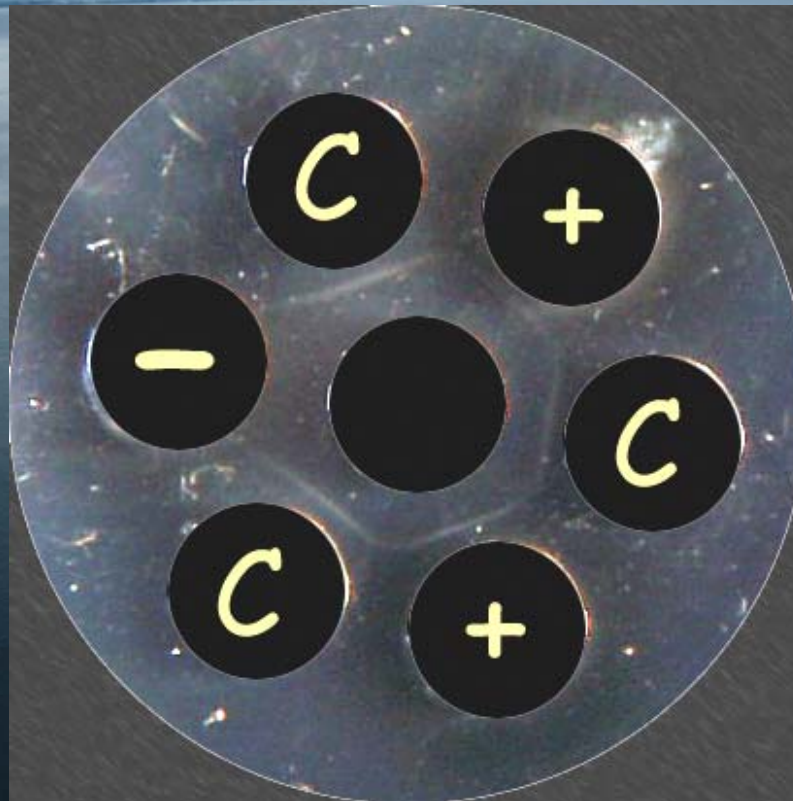
Linea di parziale identità

Linea di non-identità



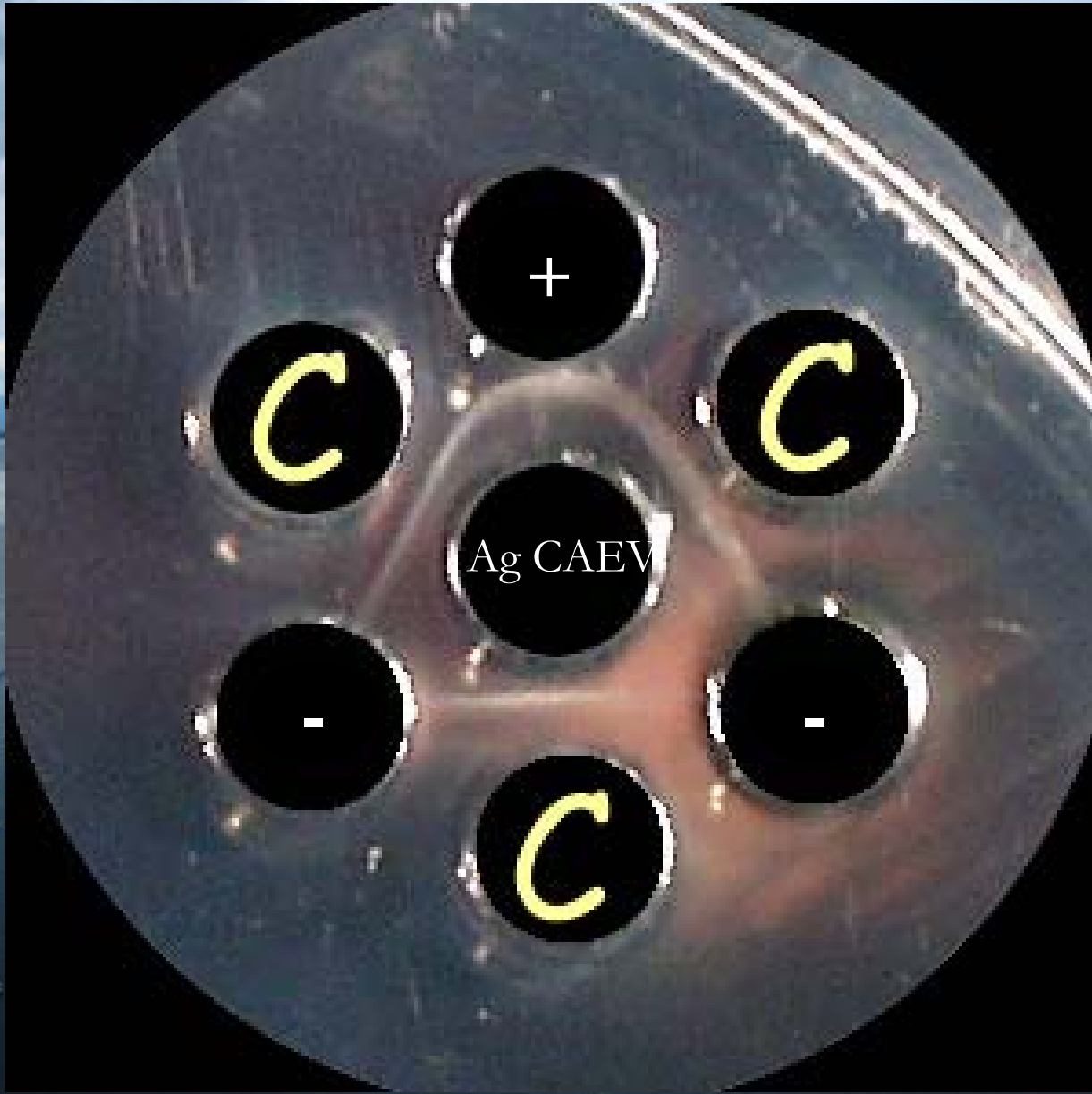
Gel-diffusione doppia bidimensionale

- Diffusione di Ag e Ab da due pozzetti adiacenti ricavati in uno strato di agar
- Linee di precipitazione



Utilità delle linee di precipitazione

- Presenza di più Aqs o più Abs reattivi
- Identificazione certa (confronto con linee di precipitazione standard)



Ag CAEV

+

C

C

-

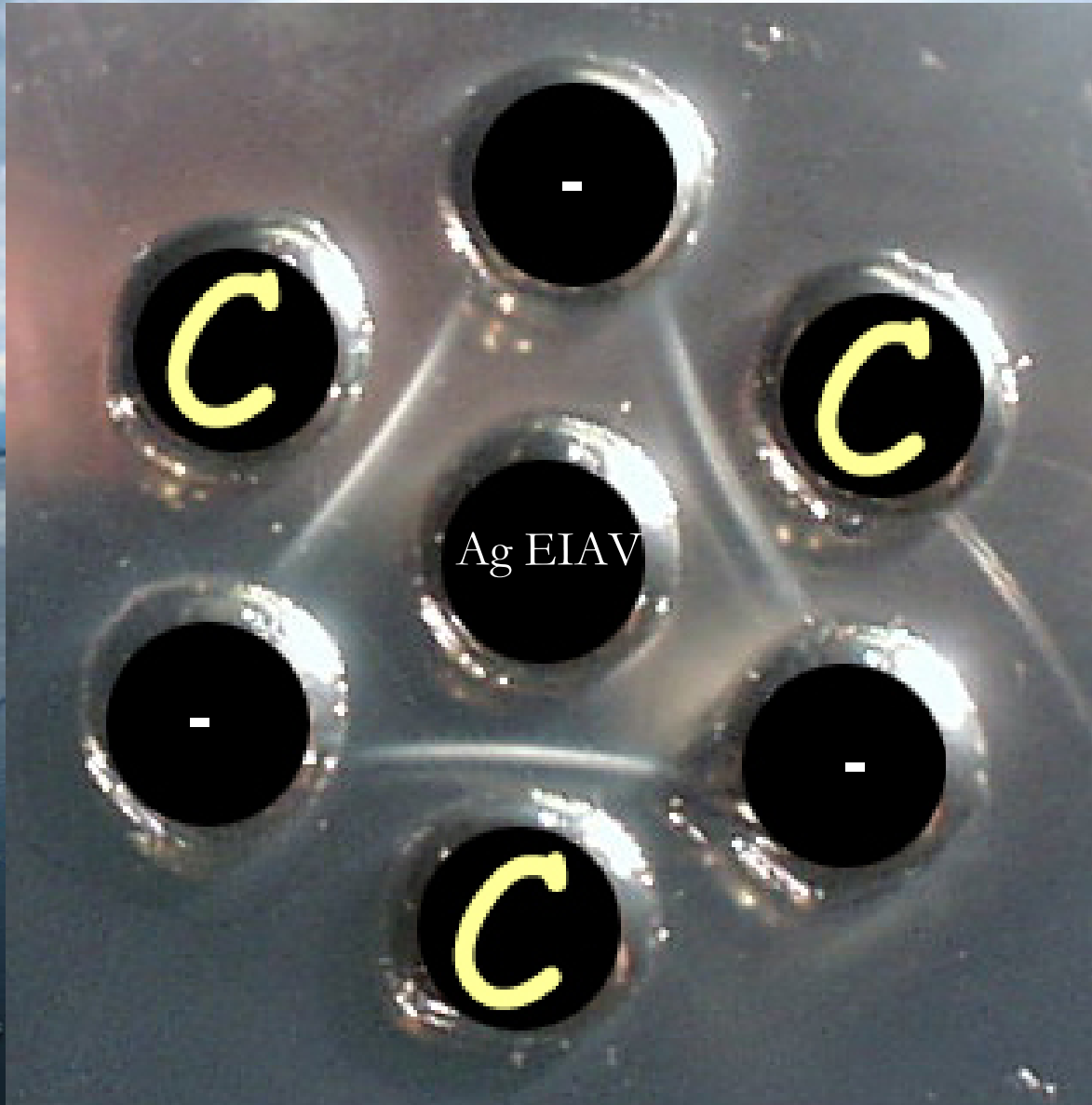
-

C

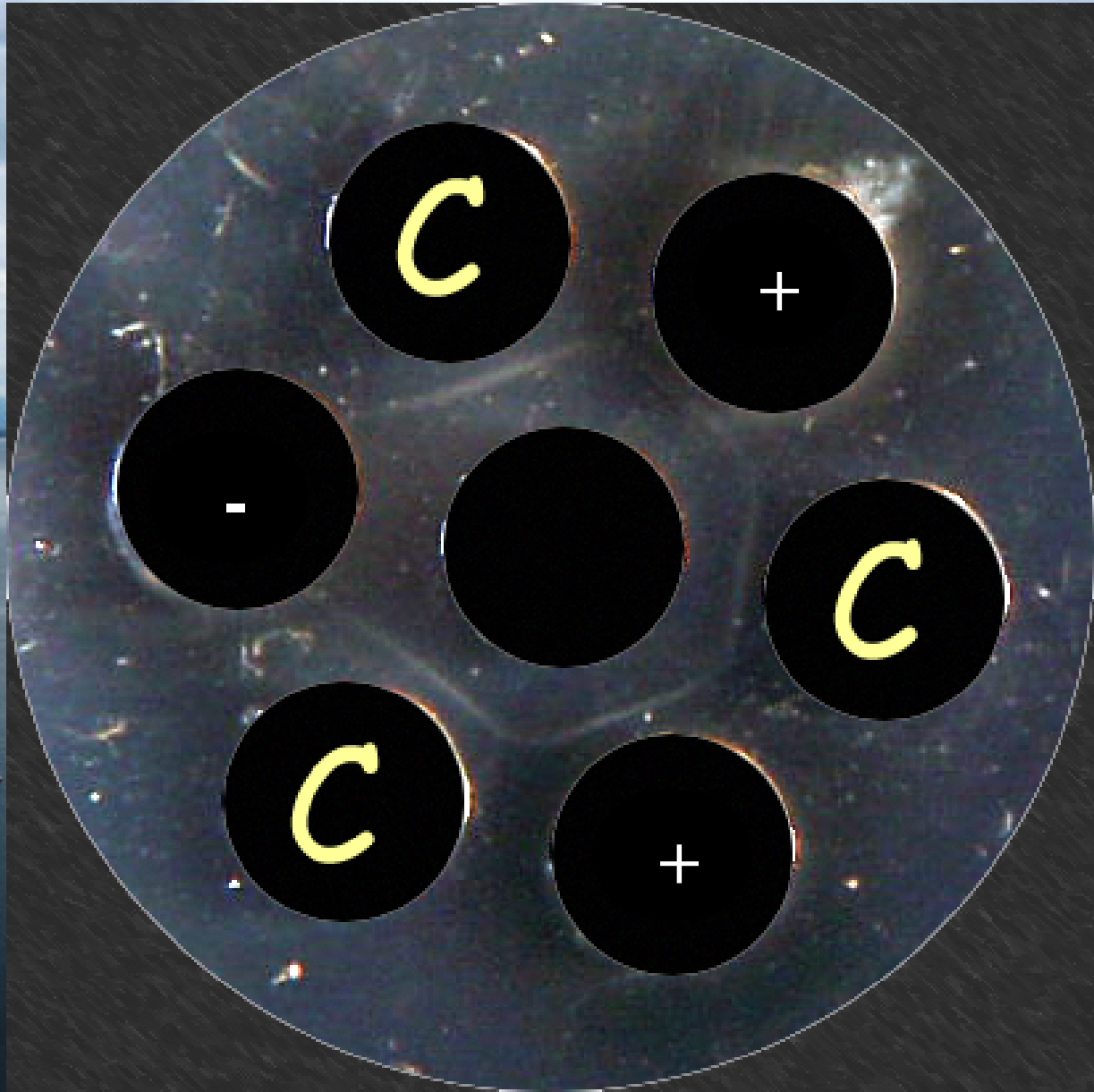
Test di Coggins

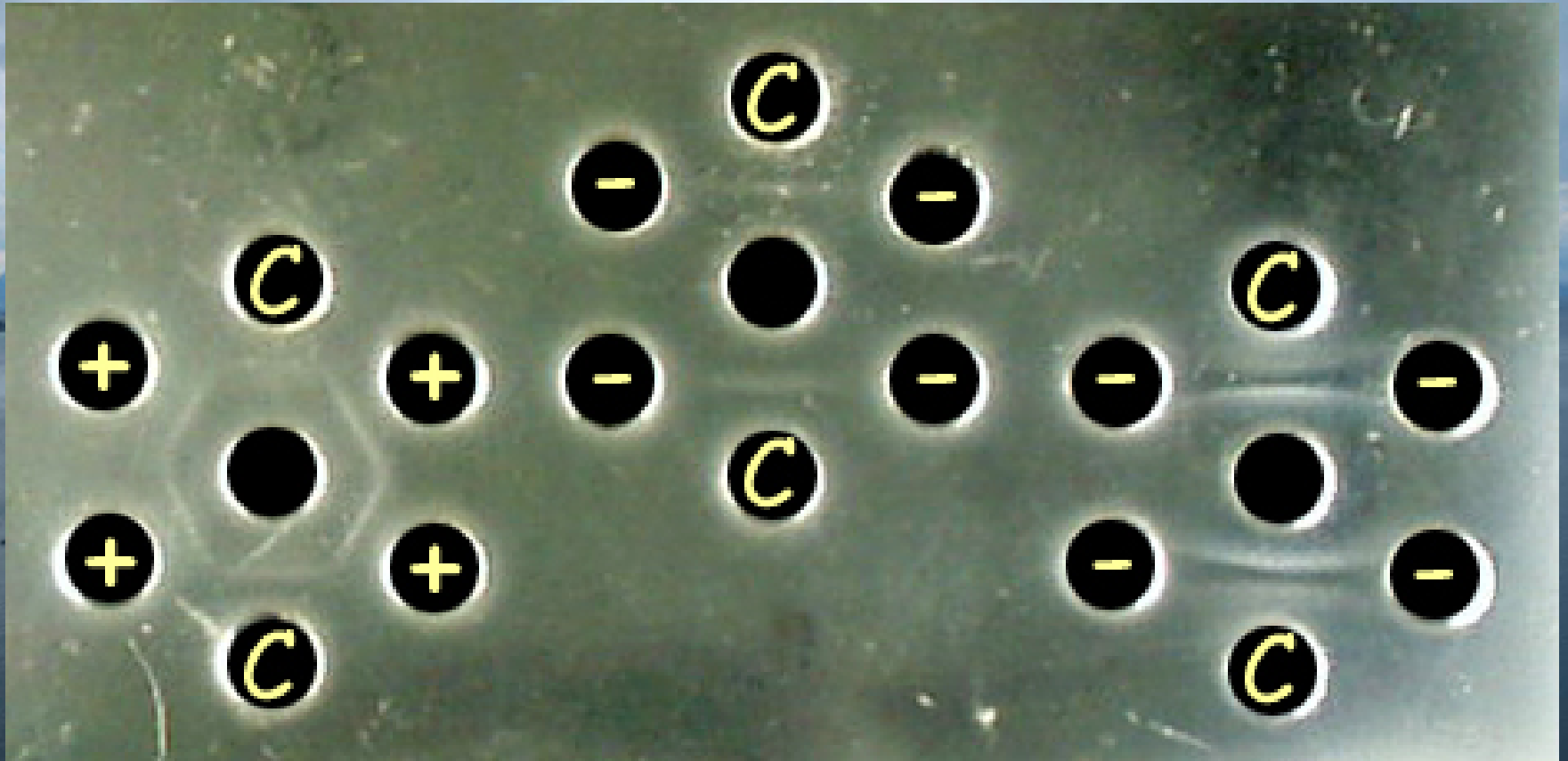


- Abs precipitanti attivi verso i costituenti del genoma antigenicamente stabili (Ags superficiali mutanti rilevati dagli Abs neutralizzanti)
- Prova positiva da 15 giorni dall'infezione
- Puledri nati da madri infette?



Ag EIAV





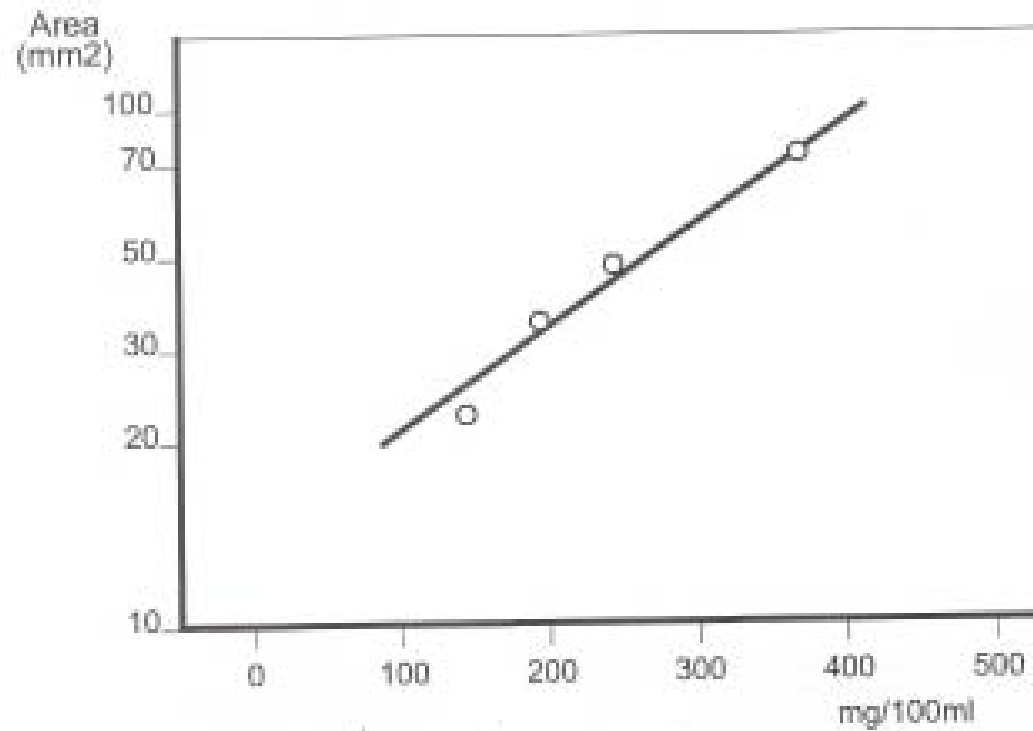
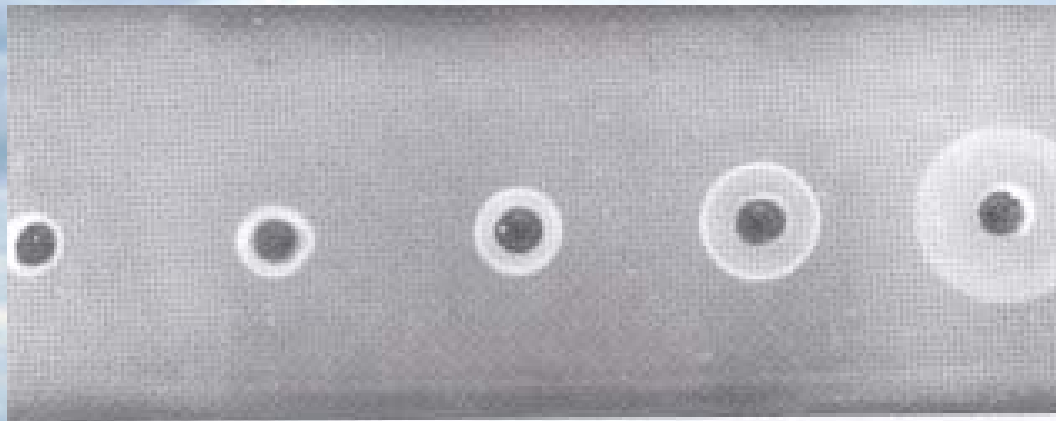
C. immitis

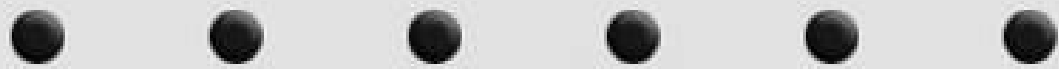
H. capsulatum

B. dermatitidis

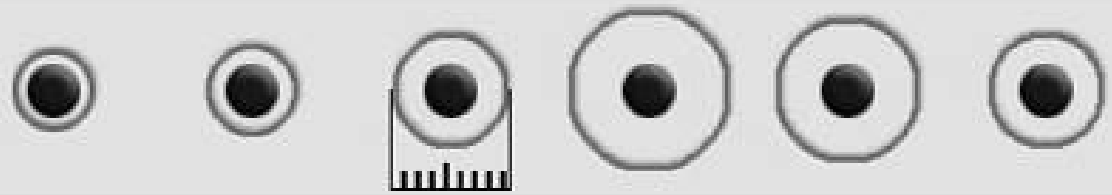
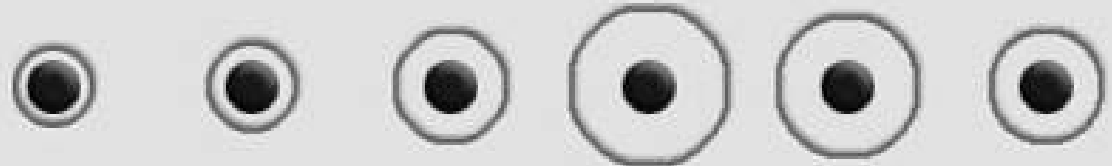
Gel-diffusione radiale

- Valutazione semi-quantitativa della concentrazione di Ag o Ab
- Ab incorporato nello strato di agar; solidificazione; preparazione pozzetti riempiti con i diversi campioni di Ag; diffusione dell'Ag nel gel; formazione di anelli di precipitazione (diametro dir. Prop. Alla concentrazione di Ag)
- Valutazione quantitativa: confronto con curva standard ottenuta da preparazione di Ags a concentrazione scalare nota
- Applicazione: concentrazione delle diverse classi anticorpali nel siero o in liquidi organici





gel impregnated with uniform concentration of anti-IgG



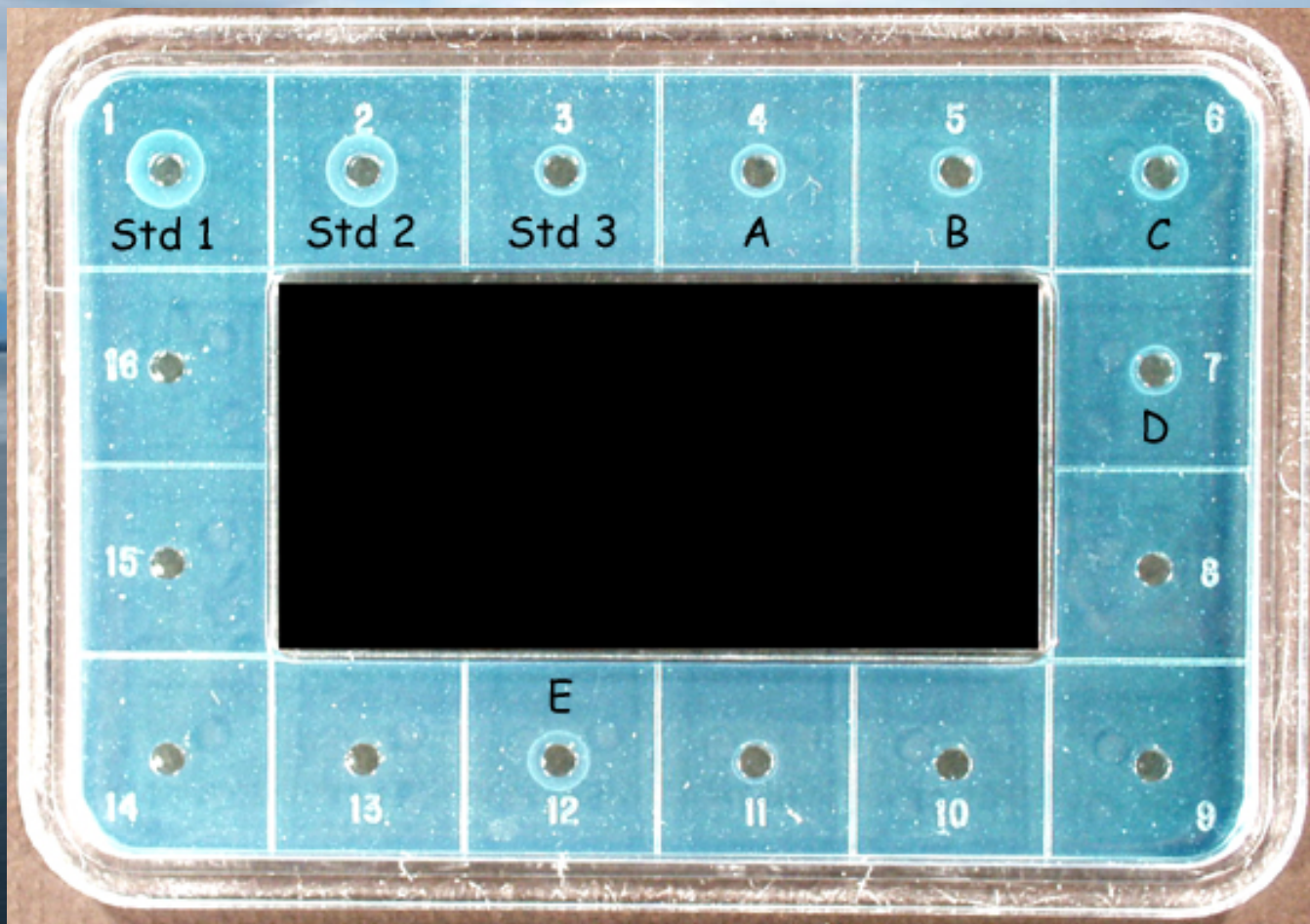


Grafico standard delle IgM

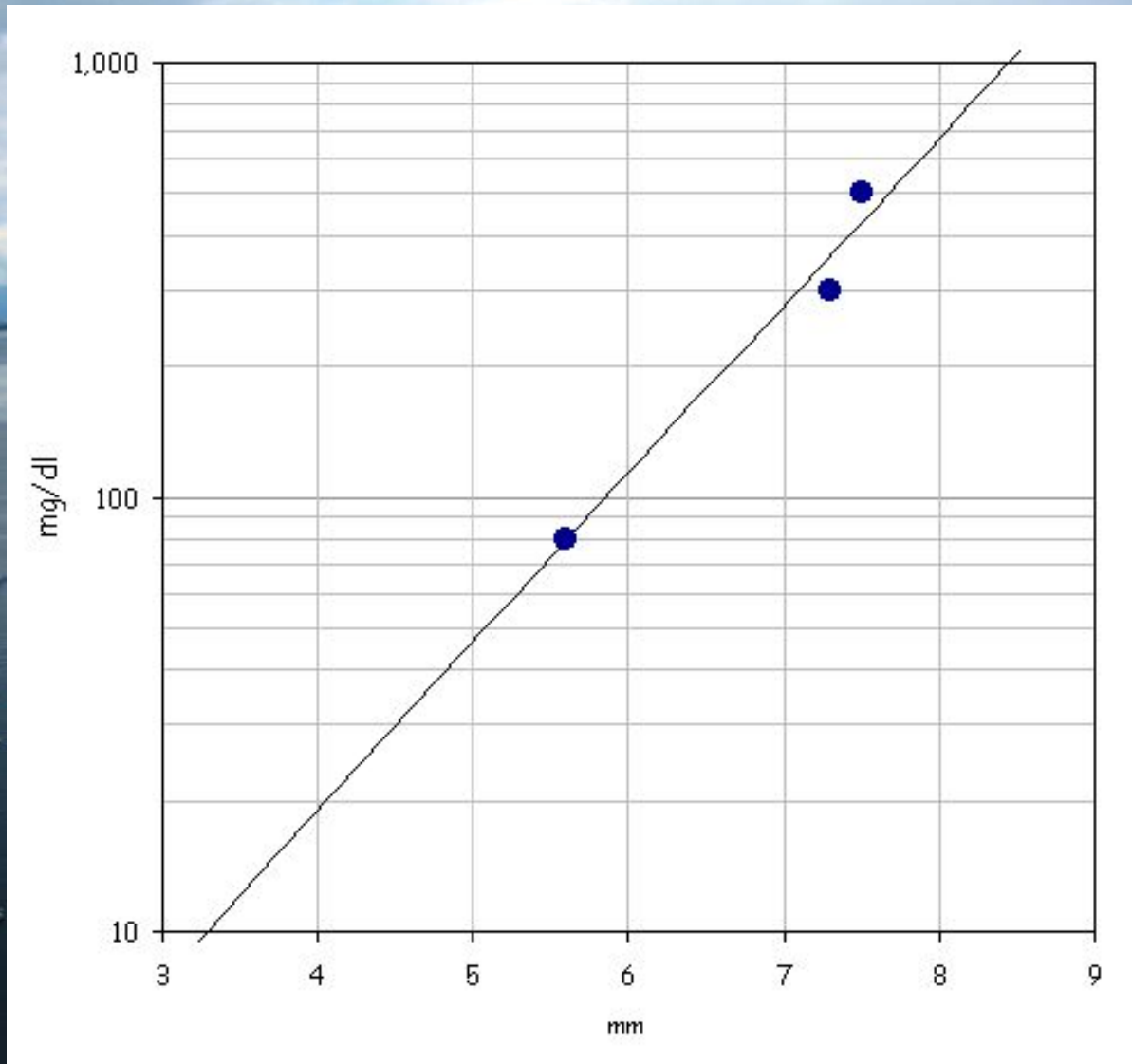
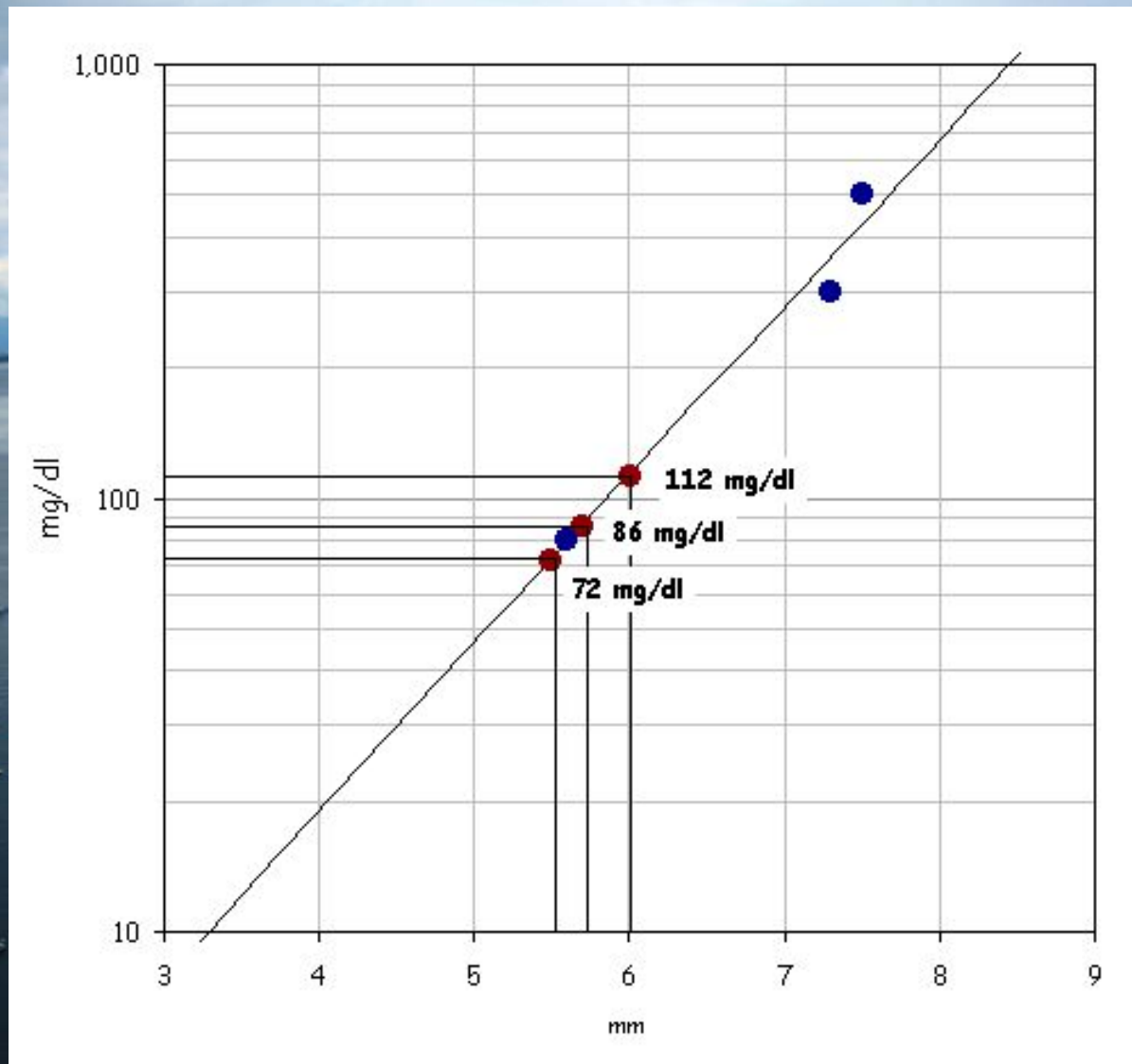


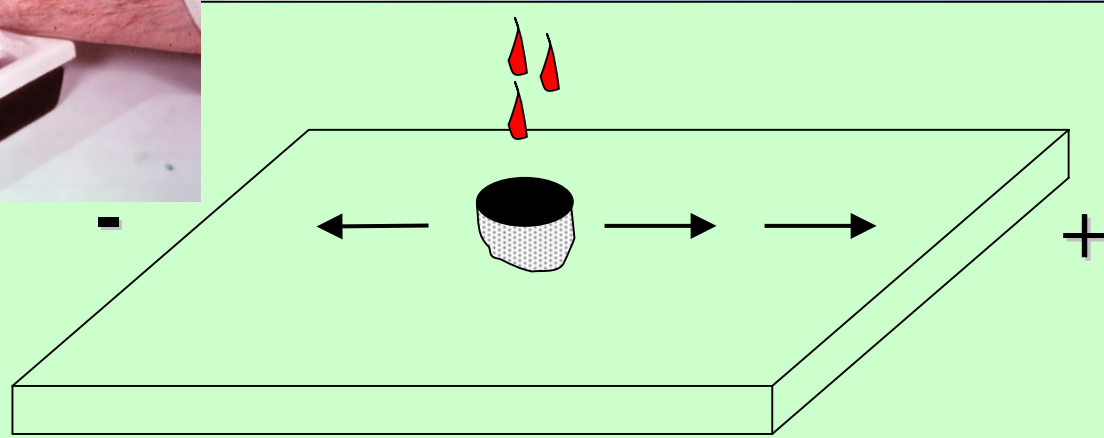
Grafico del campione in esame



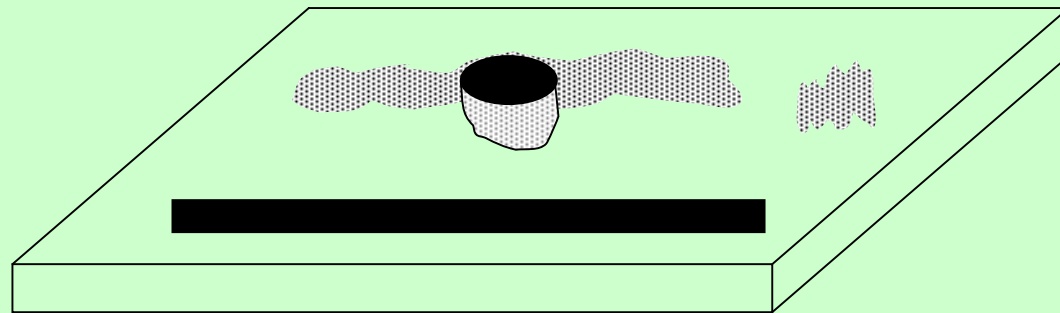
Immunolettroforesi

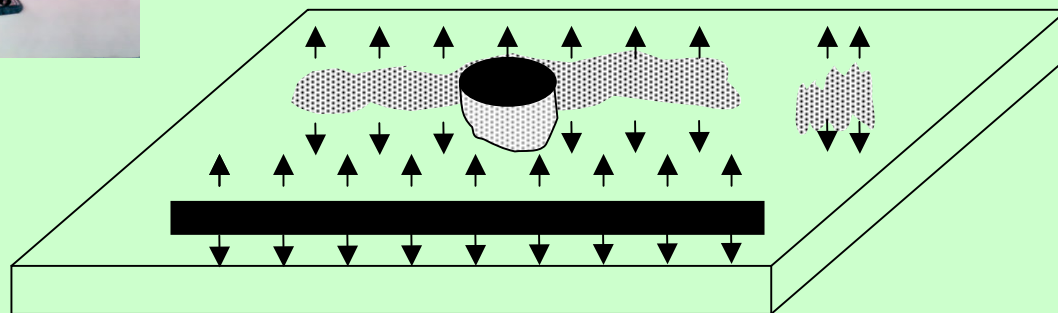


Siero nel
pozzetto e
componenti
separate per
elettroforesi

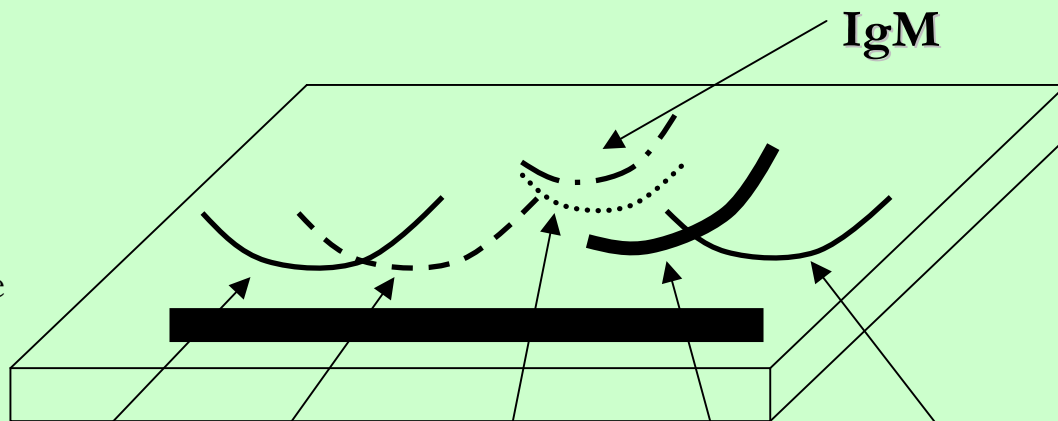


Scanalatura
nell'agar e
aggiunta di Abs
contro le
componenti
sieriche





Diffusione degli Abs verso le componenti separate che a loro volta diffondono nel gel



Bande di precipitazione

IgG

IgA

β -globuline

α 2-globuline

albumine

**Applicazione: studio delle diverse
componenti del siero**

**Nell'uomo, caratterizzazione di ben 30
componenti (elettroforesi semplice: 5)**



