

VOORSCHRIFTEN:

IMMUNO-GENETICA

Laboratorium voor Antropogenetica
Laboratorium voor Gm-genetica

I N H O U D
=====

900

- 1 = Cell coating met chromchloride
- 2 = Gm, Am en Inv typering

CELL COATING MET CHROOMCHLORIDE
=====

Hiertoe voegen wij achtereenvolgens samen:

2 delen antigeen 0,5 mg/ml	}	alles opgelost en gewassen in <u>onbufferd</u> zout
1 deel 50% celsuspensie		
1 deel CrCl_3 (0,05%)		

Dan 15 min. bij kamertemperatuur op trilapparaatje laten staan.
Vervolgens 3x wassen (op laag toerental) met onbufferd zout.
Daarna suspenderen in gebufferd zout.

Vooraf er aan denken dat er nergens fosfaat bij mag komen.
Van $\text{CrCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ een stockoplossing maken van 1% in onbufferd
zout. In kleine hoeveelheden invriezen. Direct na ontdooien
gebruiken.

Hoeveelheid CrCl_3 steekt er nauw !
(Niet te veel of te weinig toevoegen).

Gm, Am en Inv TYPERING

=====

Algemeen

Te onderzoeken serum of plasma verdunnen 1:10 en 1:30 in fysiologisch zout.

Eén druppel serumverduunning + 1 druppel antiserumverduunning + 1 druppel 0,5% erythrocytensuspensie (erythrocyten met anti-D gesensibiliseerd of met gezuiverd myeloma-proteïne m.b.v. CrCl_3).

Ongeveer 2 uur laten staan bij 16°C .

Macroscopisch aflezen.

Controles: 1) bekend positief en negatief serum moeten in deze test resp. - - en + + geven.

2) serum controle van te onderzoeken monster met gesensibiliseerde erythrocyten mag geen agglutinatie tonen.

Onderzoek naar antiglobulinen

Serumverduunningen 1:3, 1:12 en 1:48 met gelijke hoeveelheid gesensibiliseerde 0,5% erythrocytensuspensie laten staan bij 16°C .

Daartoe wordt eerst een selectie gesensibiliseerde erythrocyten gemaakt waarbij IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1, IgA2, IgM, enz. met vertegenwoordigers van de verschillende genetische typen gebruikt worden, gedeeltelijk dus m.b.v. anti-D antilichamen en verder met geïsoleerde proteïnen m.b.v. CrCl_3 .

Indien agglutinatie optreedt, wordt aan een reeks verduunningen een druppel van een 1:20 verduunning van het betreffende anti-D serum (of één druppel van het eiwit van 1/6 mg/ml) én een druppel van de 0,5% erythrocytensuspensie toegevoegd.

Ongeveer 2 uur laten staan bij 16°C en vergelijken met de agglutinatie zonder remmer, bijv.:

dilutie	2	4	8	16	32
zout	+++	++	++	+	+
remmer 1 : 20	+	+	-	-	-

Het serum in de verduunning die duidelijk verschil laat zien, wordt op specificiteit getest met een panel van bekende serummonsters.