Versuchsplanung: 20.12.2022

Versuchsdurchführung:

Assay: Pox-Multiplex

Operatoren: JL

**Kopplungskontrolle der rekombinanten Pockenvirusproteine**

**Hintergrund:**

Eine Bead-ID wurde nachgekoppelt. In diesem Assay wird die Kopplung überprüft.

**Material:**

1 Bead-Set, nur Bead-ID #52 Mit E8 Antigen

Aus Charge 10/22 (zweite Kopplung)

Aus Charge 12/22 (neue Kopplung)

Aus Charge 12/22B (ganz neue Kopplung)

**3 Bead-Mixe ansetzen, je für 16 Wells**

**„Mix 10/22“:** Beads aus zweiter Kopplung (Charge 10/22)

495 µl Assay-Puffer

+ 5 µl von Bead-ID #52 E8

**„Mix 12/22“:** Beads aus letzter Kopplung (Charge 12/22)

495 µl Assay-Puffer

+ 5 µl von Bead-ID #52 E8

**„Mix 12/22B“** Beads aus ganz neuer Kopplung (Charge 12/22B)

495 µl Assay-Puffer

+ 5 µl von Bead-ID #52 E8

**VIG Verdünnungsreihe: in Eppis Ansetzen**

|  |  |
| --- | --- |
| **Probe** | **Verdünnung** |
| VIG 1 | 100 |
| VIG 2 | 400 |
| VIG 3 | 1600 |
| VIG 4 | 6400 |
| VIG 5 | 25600 |
| VIG 6 | 102400 |
| VIG 7 | 409600 |
| VIG Blank | keine |

**VIG** soll 1:100 als erste Verdünnung (Verdünnung 1:50, final im Assay 1:100) angesetzt werden

**392 µl Assay-Puffer**

**+ 8 µl VIG**

Weitere Verdünnungen dann 1:4 Verdünnungen (400 µl ansetzen)

**300 µl Assay-Puffer**

**+ 100 µl Vorherige Verdünnung**

**Insgesamt 7 Verdünnungen** ansetzen

+ Blank (nur Assay-Puffer, z.B. 300 µl)

**Assay-Layout:**

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
|  | **Mix 10/22** | **Mix 12/22** | **Mix 12/22B** |  |  |
|  | **1** | **2** | **3** | **4** | **5** |
| **A** | VIG 1 | VIG 1 | VIG 1 |  |  |
| **B** | VIG 2 | VIG 2 | VIG 2 |  |  |
| **C** | VIG 3 | VIG 3 | VIG 3 |  |  |
| **D** | VIG 4 | VIG 4 | VIG 4 |  |  |
| **E** | VIG 5 | VIG 5 | VIG 5 |  |  |
| **F** | VIG 6 | VIG 6 | VIG 6 |  |  |
| **G** | VIG 7 | VIG 7 | VIG 7 |  |  |
| **H** | Blank | Blank | Blank |  |  |

**Durchführung:**

Nach Layout je Well 50 µl Bead-Mix vorlegen

Nach Layout je Well 50 µl der VIG-Verdünnungen zugeben

Durchführung wie serologischer Assay

Inkubation 1 Stunde bei 750 rpm, lichtgeschützt

Waschen mit Programm Beads\_3X\_FT

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **Nr** | **Nachweisantikörper** | **Lot** | **Konzentration** | **Einsatz im Assay** | **Lagerort** |
|  | Goat Anti-Human IgG PE  Jackson/Dianova 109-115-098 | 141758 | 0,5 mg/mL | 1:500 | In Arbeitsbox, weiterer in  ZBS3-KS5 Fach 2 Box 233 |

**Ansatz:**

2700 µl Assay-Puffer

+ 5,4 µl Anti-Human-PE

Je Well 100 µl, Inkubation 1 Stunde bei 750 rpm, Waschen. Je Well 100 µl Assay-Puffer für Readout