



LAT(HLAI+II类抗原)操作步骤

Cat#LAT1240(2人份板)

一. 实验原理:

将纯化的HLA抗原按照相应的分布包被在泰萨奇板上。如果测定的血清中存在HLA抗体，相应抗原将发生抗原抗体反应。利用ELISA的原理确定结果。也可肉眼观察结果。

二. 仪器与试剂: (1-8为试剂盒提供)

ELISA分析仪(推荐BioTek Elx800NB分析仪)

1. LAT板20块(LAT Tray)
2. 10倍浓度的对照血清0.2ml(10x Serum Control)
3. 去离子水1ml(Sterile Deionized Water)
4. 100倍浓度的酶联抗体0.25ml(100X Alkaline Phosphatase-Conjugated Anti-human IgG)
5. 抗体稀释液50ml(Antibody Diluent)
6. 10倍浓度的冲洗缓冲液100ml(10X Wash Buffer)
7. 显色酶底物A, B各12ml(Colorimetric Enzyme Substrate)
8. 反应终止液25ml(Stop Reagent)
9. 微量加样器(试剂盒不包括, 推荐电子连续加样器)

三. 操作步骤:

1. 用试剂盒提供的1ml去离子水溶解Serum Control, 轻轻摇震使干燥血清彻底溶解, 再从抗体稀释液中取出1ml加入溶解液充分混匀(一般需20-30分钟能够), 将配好的2ml的Serum Control分装, 每管100ul, 储存在-20℃冰箱中备用。
2. 将100ul的Serum Control加入反应板第1行的C-H孔中, 以及第12行的A-B孔, 每孔10ul
3. 用Antibody Diluent 稀释待测血清1:3, 然后, 加血清于反应板2-6行(第一人份)、7-11行(第二人份)
4. 37℃水浴箱中孵育一小时
5. 用力将反应板中的血清甩出, 并在垫有纸巾的实验台面上用力叩击反应板两至三次(注意板底朝上, 最大限度去除残余液体)
6. 用Sterile Water 稀释所提供的Wash Buffer 1:10。然后将稀释的Wash Buffer加到反应板上, 淹没全部反应孔即可, 轻轻晃动反应板后倾出洗液。用力甩击反应板将反应物尽量去除, 重复洗板三次。
7. 用Antibody Diluent 稀释所提供的Enzyme-Conjugated Antibody 1:100。然后每孔加10ul。轻轻晃动反应板, 37℃水浴箱中孵育40分钟。
8. 重复步骤5、6, 甩击试剂板板, 洗板2-3次, 将残余液体尽量甩出。
9. 将所提供的Substrate A, B对半混合, 然后每孔加10ul。
10. 避光孵育20-25分钟(室温)或10-15分钟(37℃)。
11. 待阳性对照变成深蓝色后, 每孔加5ul Stop Reagent。
12. 读板: 应用BioTek Elx800NB分析仪, 并使用软件分析结果。
13. 如无ELISA分析仪, 根据阴性和阳性对照颜色之深浅, 决定检测血清的结果。阳性为蓝色, 无色为阴性。并使用软件分析结果。