

APPLICATION

La trousses d'isotypage d'immunoglobulines de souris RD-Biotech permet par une méthode simple et rapide (**ELISA en une étape**) de déterminer les isotypes d'anticorps monoclonaux de souris dans les surnageants de culture de cellules ou dans les préparations d'anticorps purifiés. Les réactifs prêts à l'emploi sont en quantité suffisante pour l'analyse de **12 échantillons** et permettent d'obtenir **des résultats en moins de 30 min.**

Cette trousses comprend des solutions colorées afin de faciliter et contrôler le dépôt des échantillons dans les puits (Brevet déposé).

PRINCIPE DU TEST

Les anticorps capteurs, fixés dans les puits, lient les anticorps de l'échantillon et forment des complexes qui sont révélés par un anticorps détecteur couplé à la peroxydase.

La présence de l'anticorps détecteur fixé est mise en évidence par la réaction enzymatique de transformation d'un substrat chromogène (TMB).

SPÉCIFICITÉS

Le test permet la détection des chaînes légères (Kappa et Lambda) et des chaînes lourdes (Gamma 1, gamma 2a, gamma 2b, gamma 3 et mu) des immunoglobulines de souris.

CONSERVATION

Conserver la trousses entre 2-8° C. Dans ces conditions, les réactifs sont stables pendant 12 mois. Ne pas congeler.

COMPOSITION DE LA TROUSSE

Références	Contenant	Quantité
RDB3255-1	Microplaques sensibilisées avec les anticorps anti isotypes : - Puits A : IgG1 - Puits B : IgG2a - Puits C : IgG2b - Puits D : IgG3 - Puits E : IgM - Puits F : Chaîne Kappa - Puits G : Chaîne Lambda - Puits H : IgG (H+L)	12 barrettes sécables de 8 puits
RDB3255-2	Diluant de l'échantillon : PBS 1X, BSA 1%, Tween 20 0,1% (Solution bleue)	30 ml
RDB3255-3	Anticorps conjugué : Anti-Ig de souris (H+L) couplé à la peroxydase (Solution rouge)	12 ml
RDB3255-4	Substrat TMB	12 ml
RDB3255-5	Solution STOP	12 ml

Toutes les solutions sont prêtes à l'emploi

MATÉRIEL ADDITIONNEL NÉCESSAIRE ET NON FOURNI

Pipette 20-200 µl.

PRÉPARATION DE LA SOLUTION DE LAVAGE

Solution de lavage recommandée : H₂O + 0,05% Tween 20.

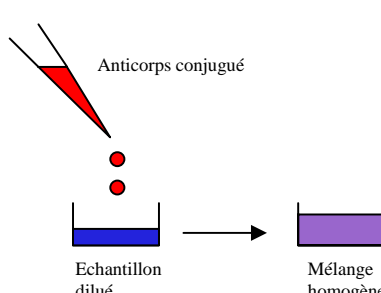
Note : Différentes solutions de lavage peuvent être utilisées. Il est recommandé de réaliser des tests préliminaires afin de contrôler les valeurs de blanc.

PRÉPARATION DES ECHANTILLONS









Diluer suffisamment l'échantillon dans le diluant RDB3255-2 pour avoir une concentration de l'ordre de 1 µg/ml. Une dilution au 1/100 convient dans la grande majorité des cas.

PROCÉDURE

Toutes les étapes du test se font à température ambiante. Sortir les réactifs 30 min avant de commencer le test. Retirer le film protecteur des barrettes.

ETAPE 1	Déposer successivement 20 µl de l'échantillon dilué (solution bleue) dans chaque puits de la barrette.
ETAPE 2	 <p>Ajouter sans délai 100 µl d'anti-Ig de souris couplés à la peroxydase dans chaque puits (solution rouge). Agiter doucement jusqu'à l'obtention d'une coloration violette homogène. Incuber 15 minutes à température ambiante.</p>
ETAPE 3	Après incubation, laver la plaque trois fois avec 300 µl de la solution de lavage.
ETAPE 4	Ajouter 100 µl de substrat TMB dans chaque puits. Incuber 10 minutes à température ambiante.
ETAPE 5	Stopper la réaction avec 100 µl de solution STOP.
ETAPE 6	Lire les résultats visuellement, ou avec un lecteur de microplaques à 450 nm pour une mesure quantitative. La plaque peut être recouverte d'un film plastique et photographiée pour un enregistrement permanent.

EXEMPLE DE RÉSULTAT

	A - IgG1
	B - IgG2a
	C - IgG2b
	D - IgG3
	E - IgM
	F - Kappa
	G - Lambda
	H - H + L

Caractérisation d'un anticorps de type IgG1 : on observe une coloration du puits A (pour la présence des IgG1) du puits F (Chaîne Kappa) et du puits H (pour le contrôle positif H+L)