

plate layout Corona vs vs-2010 SALIVA FFV IgA

Plat 1	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	S1	S9	X1	X3	X7	X15	X31	X63	X127	X255	X511	X1023
B	S2	S10	X2	X4	X8	X16	X32	X64	X128	X256	X512	X1024
C	S3	S11	X3	X6	X12	X24	X48	X96	X192	X384	X768	X1536
D	S4	S	X4	X8	X16	X32	X64	X128	X256	X512	X1024	X2048
E	S5	S	X5	X10	X20	X40	X80	X160	X320	X640	X1280	X2560
F	S6	S	X6	X12	X24	X48	X96	X192	X384	X768	X1536	X3072
G	S7	Mixer X	X7	X14	X28	X56	X112	X224	X448	X896	X1792	X3584
H	S8	Control low	X8	X16	X32	X64	X128	X256	X512	X1024	X2048	X4096

Block 1

Plat 2	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	S1	S9	X1	X3	X7	X15	X31	X63	X127	X255	X511	X1023
B	S2	S10	X2	X4	X8	X16	X32	X64	X128	X256	X512	X1024
C	S3	S11	X3	X6	X12	X24	X48	X96	X192	X384	X768	X1536
D	S4	S	X4	X8	X16	X32	X64	X128	X256	X512	X1024	X2048
E	S5	S	X5	X10	X20	X40	X80	X160	X320	X640	X1280	X2560
F	S6	S	X6	X12	X24	X48	X96	X192	X384	X768	X1536	X3072
G	S7	Mixer X	X7	X14	X28	X56	X112	X224	X448	X896	X1792	X3584
H	S8	Control low	X8	X16	X32	X64	X128	X256	X512	X1024	X2048	X4096

Block 2

Plat 3	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	S1	S9	X1	X3	X7	X15	X31	X63	X127	X255	X511	X1023
B	S2	S10	X2	X4	X8	X16	X32	X64	X128	X256	X512	X1024
C	S3	S11	X3	X6	X12	X24	X48	X96	X192	X384	X768	X1536
D	S4	S	X4	X8	X16	X32	X64	X128	X256	X512	X1024	X2048
E	S5	S	X5	X10	X20	X40	X80	X160	X320	X640	X1280	X2560
F	S6	S	X6	X12	X24	X48	X96	X192	X384	X768	X1536	X3072
G	S7	Mixer X	X7	X14	X28	X56	X112	X224	X448	X896	X1792	X3584
H	S8	Control low	X8	X16	X32	X64	X128	X256	X512	X1024	X2048	X4096

Block 3

Plat 4	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	S1	S9	X1	X3	X7	X15	X31	X63	X127	X255	X511	X1023
B	S2	S10	X2	X4	X8	X16	X32	X64	X128	X256	X512	X1024
C	S3	S11	X3	X6	X12	X24	X48	X96	X192	X384	X768	X1536
D	S4	S	X4	X8	X16	X32	X64	X128	X256	X512	X1024	X2048
E	S5	S	X5	X10	X20	X40	X80	X160	X320	X640	X1280	X2560
F	S6	S	X6	X12	X24	X48	X96	X192	X384	X768	X1536	X3072
G	S7	Mixer X	X7	X14	X28	X56	X112	X224	X448	X896	X1792	X3584
H	S8	Control low	X8	X16	X32	X64	X128	X256	X512	X1024	X2048	X4096

Block 4

Plat 5	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	S1	S9	X1	X3	X7	X15	X31	X63	X127	X255	X511	X1023
B	S2	S10	X2	X4	X8	X16	X32	X64	X128	X256	X512	X1024
C	S3	S11	X3	X6	X12	X24	X48	X96	X192	X384	X768	X1536
D	S4	S	X4	X8	X16	X32	X64	X128	X256	X512	X1024	X2048
E	S5	S	X5	X10	X20	X40	X80	X160	X320	X640	X1280	X2560
F	S6	S	X6	X12	X24	X48	X96	X192	X384	X768	X1536	X3072
G	S7	Mixer X	X7	X14	X28	X56	X112	X224	X448	X896	X1792	X3584
H	S8	Control low	X8	X16	X32	X64	X128	X256	X512	X1024	X2048	X4096

Block 5

Performet by MK

Saliva: 1/2 20ul saliva + 20ul SB
 1/1000 20ul (1/20) + 20ul SB
 1/1000 20ul (1/20) + 20ul SB
 1/1000 20ul (1/20) + 20ul SB
 1/1000 20ul (1/20) + 20ul SB

Mixer X: 1/200 5ul + 25ul SB
 1/400 5ul (1/20) + 25ul SB
 1/800 5ul (1/1000) + 25ul SB

Control low: 1/200 5ul + 25ul SB
 1/400 5ul (1/20) + 25ul SB

3 sample buffer (SB): 34.3ml Summofix + 0.7 ml FCS

Was buffer: 1X PBS low

25ul serum verdunding/well
 Incubatie tijd serum 45 min.
 3x wassen met PBS
 50ul contrastverdunding/well
 Incubatie tijd contrast 30 min.
 3x wassen en afwasen

2e ref serum
 3 step dil: 1/354 29400 S1 100µl SB + 50µl S2
 1/11160000 S2 100µl SB + 50µl S3
 1/3556800 S3 100µl SB + 50µl S4
 1/1131200 S4 100µl SB + 50µl S5
 1/437400 S5 100µl SB + 50µl S6
 1/144800 S6 100µl SB + 50µl S7
 1/44800 S7 100µl SB + 50µl S8
 1/14000 S8 100µl SB + 50µl S9
 1/1800 S9 100µl SB + 50µl S10
 1/200 S10 S11 750µl SB + 4µl 2e ref

IgA waarde
 cov19 S1 cov19 N RD nieuw
 0.00000 0.0000 0.00001
 0.00001 0.0000 0.00004
 0.00003 0.0004 0.00011
 0.00009 0.0002 0.00034
 0.00027 0.0007 0.00103
 0.00069 0.0021 0.00306
 0.00247 0.0002 0.00025
 0.00741 0.0166 0.02778
 0.02022 0.0565 0.08533
 0.09887 0.1887 0.25000
 0.28 0.58 0.75

WASSTAP	S1 (75)	S1 (75)	RD (100)
IG	182	3059	230
IGM	40	209	80
IGA	40	209	250
S1 1/200 IG	0.82	15.2	1
S1 1/200 IG G	0.458	7.63	0.5
S1 1/200 IGM	0.2	0.5	0.3
S1 1/200 IGA	0.2	0.5	0.35

400

300 x 2000 beads = 600 000 beads

72	cov19 S1 CT	12ul pp	20ul pp	12ul pp	10000 ul	(Summofix-FCS)
75	cov19 N CT	48	80	88		
73	RD CT	72	75	22		

goes F(ab)2 anti-human IgA-PE (Southern Biotech) (0.1mg/ml)
 IgA low

1/200	40	ul in	20000	ul PBS
-------	----	-------	-------	--------

2% Trizon

microcentrifug met saliva op ijzervuilen
 Draai het microcentrifuge af, (2 min 3000 g, hand)
 Maak een 1:2 voorverdunding, probeer zoveel mogelijk van bovenste tot pipetteeren, zodat er zo weinig mogelijk debris meekomt.
 maak de 1:2 verdundingen in microcentrifuge buis, de microcentrifuge af met een afdekplaatje de flowkast op het blok af met 2% trizon en erhandvat dat je het uit de flowkast haakt om af te drogen
 Draai de voorverdunding af, (2 min 3000 g, hand)
 Maak, indien nodig, de verdere verdundingen.
 Verduin de standaard en de contrasten.
 Maak de beendopzaking en pipetteer 25ul beendopzaking per well
 Pipetteer alle verdundingen op de plaat in de flowkast en plak de plaat af met een sealplaat. Daarna de dikste af de plaat en in aluminiumfolie 45 minut en de test incuberen op de stoker (200rpm) in de flowkast.
 Maak de contrastverdunding
 Was de plaat 3x in 1X flowkast: **3x wassen afwas van wassem met chloorbleet, but chloorbleet oplossen en daarna zake pipetteer in in een met balie in vrotbluik. (Hoge dekval van blauwe pipetteer balie past in het wasstapen, de 4 kan als overblijfsel dienen en kan na gebruik was)**
 Pipetteer 50 ul contrastverdunding per well
 kan in flowkast
 Laat 30minuten incuberen op de stoker (200rpm)
 kan in flowkast
 Was de plaat 3x
 neem plaatje af met trizon en erhandvat voor je hem uit de kast haakt.
 Midden op het veld (het op de 30). Raster plaat band met chloor en was het veld in plaats om te voorkomen dat de luminesc gaat vortwerpen
 UV lamp in flowkast wordt aangezet. → Flow uit, raam dicht en UV aan.
 30 minuten na geder uit te wassen met chloor en in dubbel afvalzakje met zake septosty
 afvoeren (gebruikt) (je uit flowkast aan smelten, chloorbleet bij) en dan in dubbel afvalzakje met septosty

	Blok	positie	samplecode
X1			
X1			
X2			
X3			
X4			
X5			
X6			
X7			
X8			
X9			
X10			
X11			
X12			
X13			
X14			
X15			
X16			
X17			
X18			
X19			
X20			
X21			
X22			
X23			
X24			
X25			
X26			
X27			
X28			
X29			
X30			
X31			
X32			
X33			
X34			
X35			
X36			
X37			
X38			
X39			
X40			
X41			
X42			
X43			
X44			
X45			
X46			

X47
X48
X49
X50
X51
X52
X53
X54
X55
X56
X57
X58
X59
X60
X61
X62
X63
X64
X65
X66
X67
X68
X69
X70
X71
X72
X73
X74
X75
X76
X77
X78
X79
X80
X81
X1
X2
X3
X4
X5
X6
X7
X8
X9
X10
X11
X12
X13
X14
X15
X16
X17
X18

X19
X20
X21
X22
X23
X24
X25
X26
X27
X28
X29
X30
X31
X32
X33
X34
X35
X36
X37
X38
X39
X40
X41
X42
X43
X44
X45
X46
X47
X48
X49
X50
X51
X52
X53
X54
X55
X56
X57
X58
X59
X60
X61
X62
X63
X64
X65
X66
X67
X68
X69
X70
X71

X72
X73
X74
X75
X76
X77
X78
X79
X80
X81
X1
X2
X3
X4
X5
X6
X7
X8
X9
X10
X11
X12
X13
X14
X15
X16
X17
X18
X19
X20
X21
X22
X23
X24
X25
X26
X27
X28
X29
X30
X31
X32
X33
X34
X35
X36
X37
X38
X39
X40
X41
X42
X43

X44
X45
X46
X47
X48
X49
X50
X51
X52
X53
X54
X55
X56
X57
X58
X59
X60
X61
X62
X63
X64
X65
X66
X67
X68
X69
X70
X71
X72
X73
X74
X75
X76
X77
X78
X79
X80
X81