



Gebrauchsinformation zu VD-0021-S **FITC-Ig to NDV**

Charakteristik: Immunglobulin aus hyperimmunem Kaninchenserum gegen Newcastle Disease Virus; isoliert mit Hilfe der Rivanolsulfatmethode; konjugiert mit Fluoresceinisothiocyanat und lyophilisiert.

Anwendung: Das Konjugat wird verwendet um den ND-Virus in Zellkulturen, die mit Material von verdächtigen Tieren inokuliert wurden, und in Geweben von natürlich oder experimentell infizierten Tieren nachzuweisen.

Zellkulturen: Geeignet sind primäre Hühnerembryonenzellen oder Entenembryonenzellen auf Deckglaskulturen.

Präparation der Zellkulturen: Die Kulturen werden mit Earle's Lösung gewaschen. Danach werden sie mit dem Material der zu untersuchenden Tiere - Organsuspensionen mit Antibiotikazugabe - oder mit Allantoisflüssigkeit von infizierten Embryonen infiziert und 60 min bei 37°C inkubiert. Danach werden die Präparate in serumfreien Medium, z.B. Earle's + 0,3% LAH, aufbewahrt.

Präparation des Konjugates: Das lyophilisierte Konjugat wird mit 1 ml Aqua bidest. angesetzt und mehrfach pipettiert, bis es total gelöst ist. Danach wird es mit 0,1 M Tris-HCl-Puffer, pH 8,0, in Schritten 1:2, 1:4, 1:8 usw. bis auf die Arbeitsverdünnung gebracht. Arbeitsverdünnung ist die, bei welcher noch eine gut positive Fluoreszenz zu sehen ist.

Fixierung und Färbung: Nach der Inkubation von 24 - 48 h werden die Präparate bei Raumtemperatur getrocknet, 10 min mit Aceton fixiert, und 30 min bei 37°C in einer feuchten Kammer mit der Arbeitsverdünnung des Konjugates inkubiert. Nach gründlichem Spülen mit 0,1 M Tris-HCl-Puffer, pH 8,0, werden die Präparate mit neutralem Glycerin:Tris-HCl-Puffer, 9:1, gewässert.

Überprüfung der gefärbten Kulturen: Positive Fluoreszenz ist bei beginnender Infektion durch spezifische Fluoreszenz um den Zellkern herum und den Kern teilweise überlappend angezeigt. Bei fortgeschrittener Infektion sind die Monolayer teilweise gestört und das fluoreszierende Antigen produziert leuchtende Massen im Zytoplasma.

Kontrolle der Spezifität: Durch Behandeln von nichtinfizierten Kulturen mit dem spezifischen Konjugat; Färben von infizierten Kulturen mit heterologen Konjugaten oder Inhibition der spezifischen Färbung durch vorangegangene Inkubation des Präparates mit einem spezifischen Antiserum für 30 min bei 37°C.

Packungsgröße: 1 ml

Lagerung: Dunkel und trocken bei +4°C

Unter diesen Bedingungen ist das Präparat bis zum angegebenen Verfallsdatum haltbar.

Stand: Juli 1999