

Bestimmen Sie zuerst die Anzahl der Vertiefungen/Wells, die Sie testen wollen:

- 2 Wells für die Negative Kontrolle
- 2 Wells für die Lysatkontrolle
- 2 Wells für jede zu testende Patientenprobe (+2 Wells als Verlustausgleich beim Pipettieren)

**1. Berechnung der benötigten Menge/Vol. an verdünntem Spenderlysat für die HLA Klasse I oder II:**

$$\frac{4}{\text{(Kontroll Wells)}} + \frac{\quad}{\text{(Patienten Wells)}} + \frac{2}{\text{Verlust}} = \frac{\quad}{\text{(Gesamte Wells)}} \times \frac{15 \mu\text{l}}{\text{(Vol/Well)}} = \frac{\quad \mu\text{l}}{\text{(Vol des benötigten verd. Lysats)}} \text{ (a)}$$

Berechnen Sie als nächstes die benötigte Menge/Vol. an unverdünntem Lysat.

**2. Berechnung der benötigten Menge unverdünntes Lysat für die HLA-Klasse I Streifen:**

Dividieren Sie die Gesamtmenge des verdünnten Lysats durch 8 zur Bestimmung der benötigten Menge an unverd. Lysat für die Klasse I Streifen:

$$\frac{\quad \mu\text{l}}{\text{(Vol verd. Lysat)}} \text{ (a)} \div \frac{8}{\text{(Klasse I Verdünnungsfaktor)}} = \frac{\quad \mu\text{l}}{\text{(Volumen unverdünntes Lysat f. die Klasse I Streifen)}} \text{ (b)}$$

**3. Berechnung der benötigten Menge unverdünntes Lysat für die HLA-Klasse II Streifen:**

Dividieren Sie die Menge des verdünnten Lysats durch 4 zur Bestimmung der benötigten Menge an unverd. Lysat für die Klasse II Streifen:

$$\frac{\quad \mu\text{l}}{\text{(Vol verd. Lysat)}} \text{ (a)} \div \frac{4}{\text{(Klasse II Verdünnungsfaktor)}} = \frac{\quad \mu\text{l}}{\text{(Volumen unverdünntes Lysat f. die Klasse II Streifen)}} \text{ (c)}$$

**4. Berechnung der benötigten Gesamtmenge unverdünntes Lysat für die HLA-Klasse I + II Streifen:**

Addieren Sie die Volumina der unverdünnten Klasse I und Klasse II Lysate zur Berechnung der Gesamtmenge des benötigten unverdünnten Lysats.

$$\frac{\quad \mu\text{l}}{\text{(Klasse I)}} \text{ (b)} + \frac{\quad \mu\text{l}}{\text{(Klasse II)}} \text{ (c)} = \frac{\quad \mu\text{l}}{\text{(Gesamtmenge des benötigten unverdünnten Lysats)}} \text{ (d)}$$

**5. Berechnung des benötigten Lymphozytenpellets:**

Aus der Gesamtmenge des benötigten unverdünnten Lysats wird die Gesamtmenge des benötigten Lymphozytenpellets berechnet.

$$\frac{\quad \mu\text{l}}{\text{(Vol. unverd. Lysat)}} \text{ (d)} \div \frac{10}{\text{(Lysis Verdünnung)}} = \frac{\quad \mu\text{l}}{\text{(Gesamtvol. des Lymphozytenpellet)}} \text{ (e)}$$

**Hinweis:**

*Ein 30 µl Pellet oder ungefähr 90 x 10<sup>6</sup> Zellen reicht für ein Lysat zur Testung von 20 Patientenproben in Doppelbestimmung für beide Ansätze HLA-Klasse I und II.  
 Ein 10 µl Pellet oder ungefähr 30 x 10<sup>6</sup> Zellen reicht für ein Lysat zur Testung von 20 Patientenproben in Doppelbestimmung auf dem HLA-Klasse I Streifen.  
 Ein 20 µl Pellet oder ungefähr 60 x 10<sup>6</sup> Zellen reicht für ein Lysat zur Testung von 20 Patientenproben in Doppelbestimmung auf dem HLA-Klasse II Streifen.*

**Record of Dilutions/Verdünnungsmengen:**

Volumen des verwendeten Lymphozytenpellets (e) \_\_\_\_\_  
 Volumen des benötigten verdünnten Lysepuffers \_\_\_\_\_ (100µl/10µl Pellet)

**HLA-Klasse I Lysate Dilution Record:**

Gesamtmenge verd. Klasse I Lysat (a) \_\_\_\_\_  
 Volumen unverd. Lysat (b) \_\_\_\_\_  
 Menge des benötigten LCD (a-b) \_\_\_\_\_

**HLA-Klasse II Lysate Dilution Record:**

Gesamtmenge verd. Klasse II Lysat (a) \_\_\_\_\_  
 Volumen unverd. Lysat (c) \_\_\_\_\_  
 Menge des benötigten LCD (a-c) \_\_\_\_\_