

# НАБОР ИФА ДЛЯ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ ЧЕЛОВЕЧЕСКОГО IL-23

## BMS2023/3 / BMS2023/3TEN, Human IL-23 Platinum ELISA

Каталог. №: **BMS2023/3/  
BMS2023/3TEN**  
Количество: **96, 10x96**  
Производитель: **Bender MedSystems  
GmbH, (Австрия)**

Методика от **09-07-2012**  
Версия **22**



Основой при проведении анализа является оригинал инструкции на английском языке, вложенной в набор. Номер и дата версии оригинала и перевода инструкции должны совпадать.

**Только для исследовательских целей  
Не для использования в диагностических или  
терапевтических процедурах**

### 1. НАЗНАЧЕНИЕ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ

Данный набор предназначен для количественного определения человеческого IL-23.

Набор предназначен только для диагностики *in vitro* и не должен использоваться в терапевтических целях.

### 2. ВВЕДЕНИЕ (См. инструкцию на английском языке).

### 3. ПРИНЦИП ТЕСТА

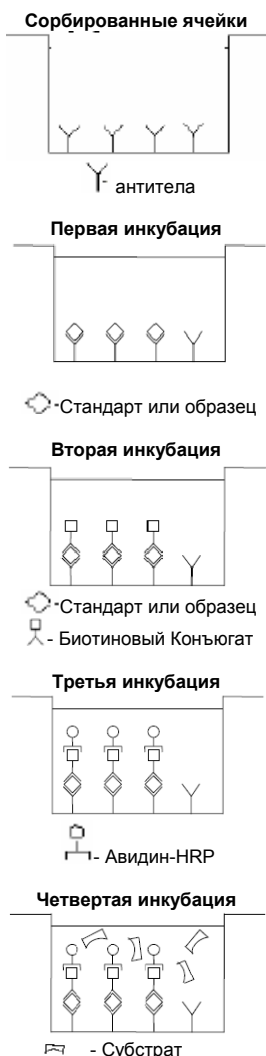
Античеловеческие антитела, покрытые IL-23, сорбированы в ячейках планшета.

Человеческий IL-23 в образце или стандарте связывается с антителами в ячейках планшета.

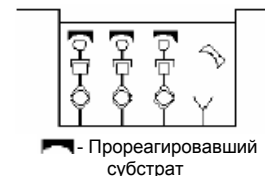
После инкубации и промывки из ячеек удаляются не связавшиеся биологические компоненты. Добавляемые Биотин-конъюгированные анти-человеческие антитела IL-23 связывают IL-23, захваченные первыми антителами.

После инкубации и промывки из ячеек удаляются не связавшиеся биотин-конъюгированные анти-человеческие антитела IL-23. Добавляется Авидин-HRP, который связывается с биотин-конъюгированными анти-человеческими антителами IL-23.

После инкубации несвязанный авидин-HRP удаляется во время промывки, и в лунки добавляют раствор субстрата, реактивный с HRP.



Окрашенный продукт образуется в количестве, пропорциональном количеству человеческого IL-23, присутствующего в образце или стандарте. Реакцию останавливают добавлением кислоты и измеряют поглощение при 450 нм. Стандартную кривую получали из 8 стандартных разведений Человеческого IL-23 и определяли концентрацию IL-23 в образцах.



### 4. ПОСТАВЛЯЕМЫЕ РЕАГЕНТЫ

#### 4.1 Реагенты в наборе Человеческий IL-23 ELISA BMS2023/3 (96 тестов)

Микропланшет, покрытый моноклональными антителами к человеческому IL-23	1 планшет
Конъюгат моноклональных анти-IL-23 антител и биотина, 55 мкл	1 флакон
Конъюгат Авидина с пероксидазой хрена, 55 мкл	1 флакон
Стандарт, лиофилизированный, 4000 пг/мл после восстановления	2 флакона
Разбавитель образцов, 12 мл	1 флакон
Концентрат Рабочего буфера 20x (PBS с 1% Tween 20 и 10 % BSA), 5 мл	1 флакон
Промывающий раствор, концентрат 20x (PBS с 1% Tween 20), 50 мл	1 флакон
Субстратный раствор (ТМБ), 15 мл	1 флакон
Стоп-раствор (1М фосфорная кислота), 15 мл	1 флакон
Плётки для заклеивания стрипов	6

#### 4.2 Реагенты в наборе Человеческий IL-23 ELISA BMS2023/3TEN (10 x 96 тестов)

Микропланшет, покрытый моноклональными антителами к человеческому IL-23	10 планшетов
Конъюгат моноклональных анти-IL-23 антител и биотина, 55 мкл	10 флаконов
Конъюгат Авидина с пероксидазой хрена, 55 мкл	10 флаконов
Стандарт, лиофилизированный, 4000 пг/мл после восстановления	10 флаконов
Разбавитель образцов, 12 мл	10 флаконов
Концентрат Рабочего буфера 20x (PBS с 1% Tween 20 и 10 % BSA), 5 мл	3 флакона
Промывающий раствор, концентрат 20x (PBS с 1% Tween 20), 50 мл	8 флаконов
Субстратный раствор (ТМБ), 15 мл	10 флаконов
Стоп-раствор (1М фосфорная кислота), 15 мл	10 флаконов
Плётки для заклеивания стрипов	30

### 5. ИНСТРУКЦИИ ПО ХРАНЕНИЮ – НАБОР ИФА

Храните компоненты набора при температуре 2-8 °С. Сразу после использования верните реагенты в холодильник (2-8 °С). Храните до даты, указанной на упаковке реагентов.

Только при соответствующем хранении и исключении контаминации во время предыдущего использования набора гарантируется качественная работа реагентов.

### 6. ЗАБОР И ХРАНЕНИЕ ОБРАЗЦА

Супернатант культуры клеток, сыворотка и плазма (ЭДТК, цитратная) могут быть использованы для анализа данным методом. Другие биологические образцы также могут быть использованы. Отделите сыворотку или плазму от сгустка или эритроцитов как можно быстрее.

Образцы, содержащие видимый преципитат, необходимо центрифугировать для отделения преципитата до анализа. Не используйте сильно гемолизированные или липемические образцы.

Если образцы не будут протестированы в день сбора, то их необходимо заморозить и хранить при температуре -20 °С или ниже, чтобы предотвратить потерю биоактивности IL-23. Если анализ будет выполнен в ближайшие 24 часа, образцы могут храниться при 2-8 °С.

Избегайте повторных циклов замораживания-размораживания образцов. Перед анализом привести образцы к комнатной температуре и аккуратно их перемешать.

### 7. ТРЕБУЕМЫЕ, НО НЕ ПОСТАВЛЯЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

- Калиброванные пипетки на 5 мл и 10 мл
- Калиброванные пипетки одноканальные переменного объема с одноразовыми наконечниками на 5 – 1000 мкл
- Многоканальные пипетки с одноразовыми наконечниками на 50 – 300 мкл

- Ванночка для реагентов для использования с многоканальной пипеткой
- Калиброванные стаканы и цилиндры, необходимые для приготовления реактивов
- Ручное или автоматическое промывающее устройство
- Микропланшетный ридер с фильтром на 450 нм и, по возможности, фильтром сравнения  $\geq 620$  нм
- Дистиллированная или деионизированная вода
- Статистический калькулятор или программное обеспечение для обработки результатов (линейная регрессия)

## 8. ПРЕДОСТЕРЕЖЕНИЯ ПО ИСПОЛЬЗОВАНИЮ

- Все химикаты считать потенциально опасными. Рекомендуется использование данных реагентов только квалифицированным персоналом в лабораторных условиях. Использовать защитную одежду, очки и перчатки. Избегать контакта с глазами и кожей. В случае контакта, промыть с большим количеством воды.
- Набор предназначен только для исследовательских целей и не должен использоваться в рутинных диагностических процедурах.
- Не смешивайте разные лоты и реагенты из разных лотов.
- Не используйте реагенты с истекшим сроком хранения.
- Избегайте облучения реагентов сильным источником света во время хранения и инкубации.
- Не пипетируйте руки.
- Нельзя есть или курить в месте, где хранятся реагенты и образцы или в месте, где проводится анализ.
- Избегайте контакта реагентов с кожей и слизистыми.
- При ручном методе анализа пользуйтесь латексными перчатками для защиты рук.
- Избегайте контакта субстратного раствора с металлами и окислителями.
- Избегайте разбрызгивания и образования аэрозолей.
- Чтобы избежать микробного загрязнения или загрязнения реактивами и получения в результате недостоверных результатов, пользуйтесь одноразовыми наконечниками.
- Используйте чистую, специально выделенную посуду для конъюгатов и субстратного раствора.
- Загрязнение кислотой инактивирует конъюгат.
- Для приготовления реактивов используйте дистиллированную или деионизированную воду.
- Субстратный раствор должен иметь комнатную температуру перед использованием
- Обеззараживайте после работы образцы, так как они могут быть инфицированы, предпочтительно автоклавированием не менее 1 часа при 121.5 °С.
- Жидкие отходы, не содержащие кислоту, и нейтрализованные необходимо смешать с раствором гипохлорита натрия таким образом, чтобы получился в итоге 1% раствор гипохлорита. Оставьте полученную смесь на 30 минут для эффективного обеззараживания. Жидкие отходы, содержащие кислоту, необходимо нейтрализовать до обеззараживания раствором гипохлорита натрия.

## 9. ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ

**Буферные концентраты** привести к комнатной температуре и развести перед началом анализа. Если в **Буферных концентратах** образовались кристаллы, аккуратно подогреть их до полного растворения.

### 9.1 Промывающий раствор (1x)

Разбавьте 50 мл концентрата дистиллированной или деионизированной водой в мерном цилиндре до конечного объема 1,0 л. Перемешайте, избегая вспенивания. Храните Промывающий раствор при 2-25 °С. Промывающий раствор стабилен 30 дней. Промывающий раствор (1x) также может быть приготовлен согласно следующей таблице:

Количество используемых стрипов	Концентрат промывающего раствора, мл	Дистиллированная вода, мл
1-6	25	475
1-12	50	950

### 9.2 Рабочий буфер (1x)

Хорошо перемешайте концентрат Рабочего буфера. Разбавьте 5,0 мл концентрата дистиллированной водой в мерном цилиндре до конечного объема 100,0 мл. Перемешайте, избегая вспенивания. Храните Разбавитель образцов при 2-8 °С. Разбавитель образцов стабилен 30 дней. Рабочий буфер (1x) также может быть приготовлен согласно следующей таблице:

Количество используемых стрипов	Концентрат Разбавителя образцов, мл	Дистиллированная вода, мл
1-6	2,5	47,5
1-12	5,0	95,0

### 9.3 Конъюгат биотина

**Заметьте, что Конъюгат биотина должен быть использован в течение 30 минут после разведения.**

Приготовьте необходимое количество биотинового конъюгата, разведя биотиновый конъюгат в 250 раз рабочим буфером непосредственно перед использованием в чистой пластиковой посуде, согласно таблице:

Кол-во стрипов	Биотиновый Конъюгат (мл)	Рабочий буфер(1x) (мл)
1-6	0.024	5.976
1-12	0.048	11.952

### 9.4 Авидин-HRP

**Заметьте, что Авидин-HRP должен быть использован в течение 30 минут после разведения.**

Разбавьте концентрат Конъюгата Рабочим буфером в соотношении 1:250 в чистой посуде.

Кол-во стрипов	Авидин-HRP (мл)	Рабочий буфер(1x) (мл)
1-6	0.024	5.976
1-12	0.048	11.952

### 9.5 Стандарт человеческого IL-23

Растворите **Стандарт IL-23** добавлением Растворителя для Образцов. Необходимый объем для растворения указан на этикетке флакона, содержащего стандарт. Осторожно перемешивайте до полного растворения. Конечная концентрация полученного раствора составит 4000 пг/мл.

Оставить стандарт для восстановления на 10-30 минут.

После использования оставшийся стандарт не может храниться и должен быть выброшен.

**Разведения стандарта** могут производиться непосредственно на планшете (см. пункт 10с) или альтернативно в пробирках (см. Пункт 9.5.1).

#### 9.5.1 Внешнее разведение Стандарта

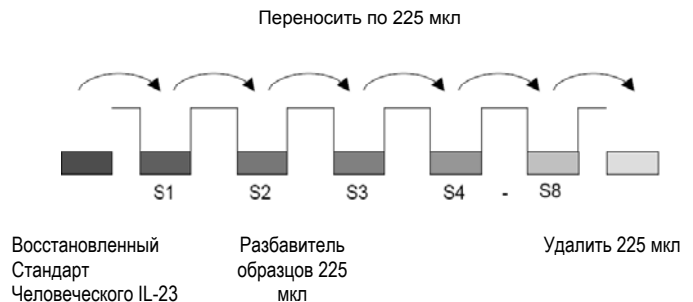
Пометить 8 пробирок, одну для каждой точки стандарта. S1, S2, S3, S4, S5, S6, S7, S8.

Затем подготовить серийные разведения 1:2 для стандартной кривой как указано ниже:

Пипетировать 225 мкл **Разбавителя Образцов** в каждую пробирку. Пипетировать 225 мкл восстановленного стандарта (концентрация стандарта = 4000 пг/мл) в первую пробирку, помеченную S1, и перемешать (концентрация стандарта = 2000 пг/мл). Пипетировать 225 мкл этого раствора во вторую пробирку, помеченную S2, и тщательно перемешать перед следующим перемещением.

Повторить серийные разведения еще 6 раз, таким образом формируя точки стандартной кривой (См. рисунок ниже).

Разбавитель образцов служит в качестве бланка.



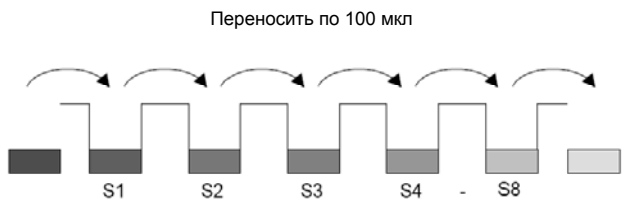
## 10. ПРОТОКОЛ АНАЛИЗА

- Достаньте требуемое для проведения анализа число 8-луночных стрипов. Поместите требуемое количество стрипов в держатель (к необходимому числу ячеек для Образцов добавьте ячейки для Бланка, Стандартов и Контроля). Все Стандарты, Бланк и Образцы необходимо анализировать в дублях. Неиспользованные стрипы сразу уберите в пакет с осушителем и храните плотно закрытым при 2-8°С.
- Промойте ячейки 2 раза 400 мкл **Промывочного Буфера**, полностью удаляя жидкость между промывками. Оставить на

**10-15 секунд.** Избегайте царапин на поверхности ячеек. Стряхните планшет на фильтровальной бумаге после последней промывки. Используйте стрипы немедленно после стряхивания или максимум через 15 минут при условии, что стрипы уложены на влажную фильтровальную бумагу в перевернутом виде. **Не позволяйте ячейкам высыхать!**

c. **Разведение стандарта на планшете** (альтернативно разбавление стандарта может быть приготовлено в пробирках – см. раздел 9.5.1):

Добавить 100 мкл Разбавителя для образцов в дублях ко всем **стандартам**. Приготовьте стандартные разведения добавлением по 100 мкл разбавленного **Стандарта** (раздел «Приготовление реагентов» 9.5) в ячейки A1 и A2 в дублях (См. табл. 1). Перемешайте содержимое ячеек A1 и A2 и перенесите по 100 мкл раствора из ячеек A1 и A2 в ячейки B1 и B2 соответственно. Во время этих манипуляций постарайтесь не поцарапать внутреннюю поверхность ячеек. Повторите перенос и разведение стандартов 6 раз, получив в итоге 2 ряда разведений **Стандарта IL-23** в диапазоне от 2000.0 до 15.6 пг/мл. Удалите и выбросьте 100 мкл жидкости из последних ячеек (H1, H2).



Восстановленный Стандарт Человеческого IL-23      Разбавитель образцов 100 мкл      Удалить 100 мкл

При **внешнем разведении стандарта** пипетировать 100 мкл этих разведений стандартов (S1-S8) в лунки для стандартов согласно таблице 1.

Таблица 1: Схема расположения образцов, бланка и стандартов на планшете.

	1	2	3	4
<b>A</b>	Ст. #1 (2000 пг/мл)	Ст. #1 (2000 пг/мл)	Бланк	Бланк
<b>B</b>	Ст. #2 (1000 пг/мл)	Ст. #2 (1000 пг/мл)	O 1	O 1
<b>C</b>	Ст. #3 (500 пг/мл)	Ст. #3 (500 пг/мл)	O 2	O 2
<b>D</b>	Ст. #4 (250 пг/мл)	Ст. #4 (250 пг/мл)	O 3	O 3
<b>E</b>	Ст. #5 (125 пг/мл)	Ст. #5 (125 пг/мл)	O 4	O 4
<b>F</b>	Ст. #6 (62.5 пг/мл)	Ст. #6 (62.5 пг/мл)	O 5	O 5
<b>G</b>	Ст. #7 (31.3 пг/мл)	Ст. #7 (31.3 пг/мл)	O 6	O 6
<b>H</b>	Ст. #8 (15.6 пг/мл)	Ст. #8 (15.6 пг/мл)	O 7	O 7

Ст – Стандарт, O – образец

- Внесите по 100 мкл **Разбавителя образцов** в дубликаты в ячейки «Бланк».
- Внесите по 50 мкл **Разбавителя образцов** в ячейки, предназначенные для образцов.
- Внесите по 50 мкл каждого **образца** в дублях в соответствующие ячейки.
- Закройте планшет **плёнкой** и инкубируйте 2 часа при комнатной температуре (18–25 °C).
- Приготовьте **биотиновый конъюгат** (раздел 9.3).
- Снимите пленку. Полностью удалите содержимое ячеек. Промойте ячейки 5 раз как указано в шаге «b» настоящего протокола. Переходите немедленно к следующему шагу.
- Добавьте по 100 мкл **биотинового конъюгата** во все ячейки.
- Закройте планшет **плёнкой** и инкубируйте 1 час при комнатной температуре (18–25 °C).
- Приготовьте **конъюгат Авидин-HRP** (раздел 9.4).
- Снимите пленку. Полностью удалите содержимое ячеек. Промойте ячейки 5 раз как указано в шаге «b» настоящего протокола. Переходите немедленно к следующему шагу.
- Внесите по 100 мкл разбавленного **конъюгата Авидин-HRP** во все ячейки.
- Закройте планшет **плёнкой** и инкубируйте 30 минут при комнатной температуре (18–25°C).
- Снимите пленку. Полностью удалите содержимое ячеек. Промойте ячейки 5 раз как указано в шаге «b» настоящего протокола. Переходите немедленно к следующему шагу.
- Внесите по 100 мкл **Субстратного раствора** ТМБ во все ячейки.
- Инкубируйте при комнатной температуре в темноте в течение примерно 15 минут. Избегайте попадания прямого света.

**Развитие цвета на планшете должно проверяться и реакция субстрата остановлена (см. следующий пункт этого протокола) до того, как положительные лунки больше четко не прослеживаются.**

**Определение идеального периода времени для проявления цвета должно быть сделано индивидуально для каждого анализа.**

Рекомендуется добавление стоп раствора, когда наивысший стандарт достиг темно-синего цвета. Реакция должна быть остановлена, как только Стандарт 1 достиг значения ОП 0.9 – 0.95.

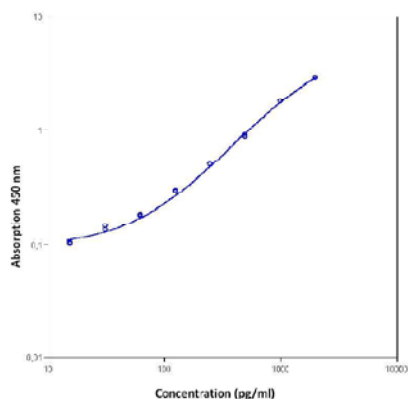
- Добавьте по 100 мкл **стоп-раствора** во все ячейки, включая «Бланк», чтобы полностью инактивировать фермент в ячейках. Важно вносить стоп-реагент быстро и с той же скоростью, что и субстратный раствор. Оптическую плотность считать немедленно после внесения стоп-реагента или в течение 1 часа при условии, что стрипы находились всё это время при температуре 2-8 °C в темноте.
- Определите оптическую плотность всех ячеек при 450 нм против «Бланка», желательно использовать длину волны сравнения 620 нм (допустима длина волны сравнения в диапазоне 610-650 нм). Бланкируйте микропланшетный ридер согласно руководству производителя, используя ячейки «Бланк». Определите ОП как в ячейках, содержащих образцы, так и в ячейках, содержащих разведения стандарта.

## 11. РАСЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ

- Рассчитайте результаты. Для этого рассчитайте среднее значение поглощения для каждого стандарта и образца. Отклонение от среднего не должно быть более 20%.
- Используя графическую бумагу, отметьте точки считанных значений поглощения стандартов на вертикальную ось Y, а соответствующие концентрации IL-23. на горизонтальную ось X. Проведите оптимальную кривую по точкам.
- Определите концентрации IL-23 в образцах из стандартной кривой. Для этого найдите значение на оси ординат (Y) соответствующее среднему значению полученной для каждого образца ОП и проведите горизонтальную линию до пересечения со стандартной кривой. Затем из точки пересечения проведите вертикальную линию до пересечения с осью абсцисс (X). Значение на оси X в точке пересечения и будет соответствовать концентрации IL-23 в соответствующей пробе.
- В ходе анализа, согласно данной инструкции, образцы были разведены 1:2, следовательно, концентрации, полученные из калибровочной кривой, должны быть умножены на коэффициент разведения (x2).**
- Расчет образцов с концентрацией, превышающей Стандарт 1, может привести к неправильным результатам с низким уровнем человеческого IL-23. Такие образцы требуют дальнейшего внешнего предварительного разведения в соответствии с ожидаемыми значениями IL-23 с Растворителем для образцов в целях точного количественного определения уровней фактического человеческого IL-23.**
  - Подразумевается, что в каждую серию анализа включается контрольный образец с известной концентрацией IL-23. Если значения контроля не укладываются в ожидаемый диапазон, результаты анализа могут быть недостоверны.
  - Пример стандартной кривой показан на Рисунке ниже. Не используйте эту стандартную кривую для расчёта ваших образцов. Стандартная кривая должна быть включена в каждую постановку.

**Рисунок.** Пример стандартной кривой для IL-23. IL-23 был разбавлен в серии двукратных последовательных шагов титрования Разбавителем образцов. Здесь представлены средние значения из трех параллельных титрований.

Не используйте эту стандартную кривую для расчёта ваших образцов. Стандартная кривая должна быть включена в каждую постановку.



**Таблица:** Типичные результаты, полученные с использованием данного набора. Измерение на 450 нм, длина волны сравнения 620 нм.

Стандарт	IL-23, пг/мл	ОП (450 нм)	ОП, среднее	CV, %
1	2000	2.878 2.864	2.871	0.3
2	1000	1.789 1.812	1.801	0.6
3	500	0.870 0.917	0.894	2.6
4	250	0.510 0.508	0.509	0.3
5	125	0.289 0.294	0.292	0.8
6	62.5	0.178 0.180	0.179	0.5
7	31.3	0.132 0.143	0.143	7.4
8	15.6	0.102 0.103	0.103	0.5
Бланк	0.0	0.066 0.069	0.068	2.1

ОП, полученные для стандартов, могут меняться в зависимости от условий выполнения анализа (например, температурный режим). Кроме того, на протяжении срока годности набора энзиматическая активность, и, следовательно, интенсивность окрашивания, могут изменяться. При этом результаты тестирования остаются достоверными.

## 12. ОГРАНИЧЕНИЯ

- Так как условия могут меняться от анализа к анализу, стандартная кривая должна быть включена в каждую серию анализа.
- Бактериальное или грибковое загрязнение образцов или реактивов может привести к недостоверным результатам.
- Используйте одноразовые наконечники.
- Стеклянная посуда должна быть тщательно вымыта.
- Неполная промывка негативно влияет на точность результатов. Полностью удаляйте Промывочный буфер из ячеек между циклами промывки. Не позволяйте ячейкам высохнуть между шагами анализа.
- Использование радиоиммунотерапии значительно увеличило число пациентов с человеческими антимышиными IgG (НАМА). НАМА могут интерферировать в анализе, использующем мышиные моноклональные антитела, приводя к ложно положительным и ложно отрицательным результатам. Образцы сыворотки, содержащие антитела к мышиным иммуноглобулинам, могут быть проанализированы в случае, когда мышиные иммуноглобулины (сыворотка, асцитная жидкость или моноклональные антитела другой специфичности) добавляются к Разбавителю образцов.

## 13. РАБОЧИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

### 13.1 Чувствительность

Минимально определяемая концентрация IL-23, определенная как концентрация аналита, дающая ОП значительно выше, чем буфер для разведения (среднее плюс 2 стандартных отклонения), составила 4.0 пг/мл (среднее 6 независимых определений).

### 13.2 Воспроизводимость

#### 13.2.1 Воспроизводимость внутри одной серии

Воспроизводимость внутри одной серии определялась в 3 независимых сериях анализа. В каждой серии анализа было выполнено по 6 определений каждого из 5 образцов сывороток, содержащих различные концентрации IL-23. В каждый планшет были включены по две стандартные кривые. В таблице приведены

средние значения IL-23 и коэффициент вариации для каждого образца. Коэффициент вариации составил в среднем 5.9 %.

**Таблица 3:** Среднее значение концентрации и коэффициент вариации для каждого образца

Образцы	Эксперимент	Средняя концентрация, пг/мл	Кoeff. вариации (%)
1	1	977	3.8
	2	1103	2.1
	3	952	2.9
2	1	407	6.0
	2	432	5.4
	3	387	6.6
3	1	222	4.4
	2	224	3.0
	3	225	2.5
4	1	120	10.0
	2	114	2.6
	3	102	5.9
5	1	47	9.2
	2	56	10.8
	3	55	13.7

#### 13.2.2 Воспроизводимость между сериями

Воспроизводимость между сериями в одной лаборатории определялась в 2-х независимых сериях анализа. В каждой серии анализа было выполнено по 6 определений каждого из 5 образцов сыворотки, содержащих различные концентрации IL-23. В каждый планшет были включены по две стандартные кривые. В таблице приведены средние значения IL-23 и коэффициент вариации для каждого образца, рассчитанный из 18 определений каждого образца. Коэффициент вариации составил в среднем 6.3 %.

**Таблица 4:** Среднее значение концентрации и коэффициент вариации каждого образца

Образец	Концентрация IL-23 пг/мл	Кoeff. Вариации (%)
1	1011	8.0
2	408	5.5
3	224	0.6
4	112	8.0
5	53	9.3

## 13.3 Извлечение

Извлечение оценивали, тестируя образцы сыворотки, плазмы (ЭДТК, цитрат), обогащенные 3 разными уровнями IL-23 человека. Извлечение оценивали с использованием 4 репликантов для каждого уровня. Количество эндогенного IL-23 в не обогащенной сыворотке вычитали из значений, полученных для обогащенного образца.

Sample matrix	Spike high		Spike medium		Spike low	
	Mean (%)	Range (%)	Mean (%)	Range (%)	Mean (%)	Range (%)
Serum	64	63 – 65	62	48 – 76	51	-
Plasma (EDTA)	94	74 – 114	75	73 – 77	65	63 – 67
Plasma (citrate)	82	81 – 84	68	67 – 70	53	52 – 54
Cell culture supernatant	113	105 – 122	112	111 – 114	82	80 – 85

### 13.4. Линейность

Образцы с различными уровнями IL-23, были проанализированы в сериях двукратных разведений, по 2 повтора каждого. В таблице приведены полученные значения.

Таблица 6

Sample matrix	Recovery of Exp. Val.		
	Dilution	Mean (%)	Range (%)
Serum	1:4	117	116 – 119
	1:8	121	112 – 129
Plasma (EDTA)	1:4	100	99 – 101
	1:8	116	108 – 123
Plasma (citrate)	1:4	87	80 – 94
	1:8	89	59 – 120
Cell culture supernatant	1:4	93	90 – 97
	1:8	87	78 – 95

### 13.5 Стабильность образцов

#### 13.5.1 Стабильность при замораживании-размораживании

Аликвоты сыворотки (с добавлением IL-23) хранились при температуре  $-20^{\circ}\text{C}$  и размораживались 3 раза, после чего определялись уровни IL-23. Не наблюдалась значительная потеря иммунореактивности IL-23.

#### 13.5.2 Стабильность при хранении

Аликвоты сыворотки (с добавлением IL-23) хранились при температуре  $-20^{\circ}\text{C}$ ,  $2-8^{\circ}\text{C}$ , комнатной температуре и при  $37^{\circ}\text{C}$  в течение 24 часов, после чего определялись уровни IL-23. Не наблюдалось значительных потерь иммунореактивности IL-23.

### 13.6 Специфичность

Влияние циркулирующих факторов иммунной системы было оценено путем добавления к позитивным образцам сывороток с известной концентрацией IL-23 физиологически значимых количеств исследуемых факторов. Не была выявлена перекрестная реактивность с исследованными факторами.

Можно было обнаружить интерференцию с CpG; поэтому контроли должны быть добавлены при использовании этого соединения в анализе.

### 13.7 Ожидаемые значения

Данным методом определения IL-23 была протестирована панель из 40 образцов сывороток случайным образом выбранных практически здоровых людей (мужчин и женщин).

Не было обнаружено детектируемых уровней человеческого IL-23.

**15. ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ (КРАТКОЕ ИЗЛОЖЕНИЕ)** (См. в оригинале инструкции).

**16. ПРОТОКОЛ ТЕСТА (КРАТКОЕ ИЗЛОЖЕНИЕ)** (См. в оригинале инструкции).



#### ОФИЦИАЛЬНЫЙ ДИСТРИБЬЮТОР

ООО «ДИАМЕБ»  
ул. Чорновола, 97  
г. Ивано-Франковск, 76005  
тел.: +38 (0342) 775 122  
факс: +38 (0342) 775 123  
e-mail: [info@diameb.ua](mailto:info@diameb.ua)  
[www.diameb.com](http://www.diameb.com)