



## Набор для определения В-2 МИКРОГЛОБУЛИНА

$\beta$ 2-Microglobulin EIA KIT

**Кат. №** : 105-1789  
**Количество тестов** : 96  
**Производитель** : DRG (USA)

**Внимание:** основой при проведении анализа есть оригинал инструкции на англ. языке.

*Согласно методике от 16/05/05*

### НАЗНАЧЕНИЕ.

Настоящий набор предназначен для количественного определения концентрации  $\beta$ 2-микроглобулина в сыворотке крови.

### ВСТУПЛЕНИЕ.

Человеческий  $\beta$ 2-микроглобулин (B2MG) является 11,8 кДа протеин, идентичный легкой цепи HLA-A, -B, -C антигена. B2MG выражается в ядерных клетках и обнаружен при низких уровнях в сыворотке и моче нормальных индивидов. Концентрация B2MG увеличивается при воспалительных заболеваниях, некоторых вирусных заболеваниях, нарушении работы почек и аутоиммунных заболеваниях. Численные публикации описывают интерпретацию уровней B2MG в сыворотке при оценке статуса индивидов при разных клинических условиях.

### ПРИНЦИП МЕТОДА.

Набор DRG B2MG ELISA базируется на принципе твердофазового ферментно-связанного иммуносорбентного теста. Система набора использует моноклональное антитело, направленное против дистинктивной антигенной детерминанты на интактной B2MG молекуле. Мышиное моноклональное анти-B2MG используется для твердой фазы иммобилизации (на ячейках). Овечье анти-B2MG антитело присутствует в антитело-энзим (пероксидаза хрена) растворе конъюгата. Разбавленный тестовый образец реагирует сначала с иммобилизованным антителом 30 минут при 37°C. Овечий анти-B2MG-HRPO конъюгат потом добавляется и реагирует с иммобилизованным антигеном 30 минут при 37°C, в результате B2MG молекулы будут сэндвиче между твердой фазой и энзим-связанными антителами. Ячейки промываются для удаления несвязанных меченных антител. Раствор ТМВ реагента добавляется и инкубируется 20 минут при комнатной температуре, в результате развивается голубой окрас. Развитие окраса останавливается добавлением стоп раствора, что изменяет цвет на желтый. Концентрация B2MG прямо пропорциональна

интенсивности окраса тестового образца. Абсорбция измеряется спектрофотометрически при 450 нм.

### РЕАГЕНТЫ.

#### Поставляемые материалы:

- Планшетка на 96 лунок, покрытых мышинным моноклональным анти-B2MG антителом;
- Стандарты, содержащие 0, 0,625, 1,25, 2,5, 5 и 10 мкг/мл B2MG 1 набор, предварительно 101 кратно разбавленные;
- Разбавитель образцов, 100 мл;
- Ферментный конъюгат, 22 мл;
- ТМВ-реагент (один этап), 11 мл;
- Стоп раствор (1N HCl), 11 мл

#### Необходимые, но не поставляемые материалы.

- пипетки на 50, 100, 200 мкл и 1,0 мл;
- сменные наконечники к пипеткам;
- дистиллированная вода;
- вортекс;
- абсорбирующая бумага;
- графическая бумага;
- микропланшетный ридер, способный проводить измерения при 450 нм ( $\pm 10$  нм).

### СБОР И ПРИГОТОВЛЕНИЕ ОБРАЗЦОВ.

1. Кровь необходимо собрать стандартной венепункцией и необходимо отделить сыворотку от красных кровяных клеток как можно быстрее. Избегайте сильно гемолизированной, липидной или мутной сыворотки.
2. Образцы необходимо накрыть и они могут храниться до 48 часов при 2-8°C до начала анализа. Образцы при более длительном периоде хранения необходимо заморозить до -20°C и они могут храниться до 6 месяцев. Оттаявшие образцы необходимо вращать несколько раз.
3. Соберите образцы мочи и храните при 2-8°C до 5 дней или до -20°C более длительный период. Образцы мочи разбавляются 1:10, добавлением 50 мкл мочи к 450 мкл разбавителя образца. Используйте ту же процедуру, как и для сыворотки.

### ХРАНЕНИЯ.

Не вскрытые наборы должны храниться при 2-8°C в запечатанном виде вместе с дессикантом. Открытые наборы останутся стабильными до окончания даты годности. Можно использовать фотометр, годный для чтения при 450 нм.

### ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ.

1. Перед использованием все реагенты должны быть приведены к комнатной температуре. Все реагенты нужно аккуратно смешать перед использованием. Не допускайте пенообразования.
2. Разбавьте лиофилированные стандарты 1,0 мл дистиллированной воды. Оставьте их на 20 минут и мягко смешайте. Разбавленные стандарты останутся стабильными 30 дней при 2-8°C.

### ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА.

1. Образцы сыворотки, плазмы и контрольной сыворотки необходимо развести перед использованием для получения лучших результатов. Приготовьте серии маленьких

**пробирок (как 1,5 мл микроцентрифужных пробирок) и смешайте 10 мкл сыворотки и 1,0 мл разбавителя образца (101 разбавление). Не разбавляйте стандарты, они уже разбавлены 101 кратно.**

2. Пометьте стрипы, которые будут использованы.
3. Пипеткой внесите **20 мкл** стандартов, разбавленных образцов и контролей в соответствующие лунки планшета.
4. Добавьте **200 мкл** разбавителя образца в каждую лунку.
5. Тщательно перемешайте на протяжении **30 сек.** Очень важно достичь полного смешивания на данном этапе.
6. Инкубируйте течение **30 минут** при 37°C.
7. Вытряхните содержимое лунок.
8. Промойте дистиллированной или деионизированной водой **5 раз**.
9. Резко встряхните планшет над фильтровальной бумагой и промокните остатки влаги.
10. Добавьте **200 мкл** ферментного конъюгата в каждую лунку. Легко смешивайте **10 секунд**.
11. Инкубируйте **30 минут** при 37°C.
12. Удалите инкубационную смесь и промойте как описано в шагах 7, 8, 9.
13. Добавьте **100 мкл** ТМВ реагента в каждую лунку.
14. Легко смешивайте 10 секунд.
15. Инкубируйте течение **20 минут** при комнатной температуре в темноте.
16. Добавьте **100 мкл** стоп реагента в каждую лунку.
17. Легко смешивайте **10 секунд**. **Очень важно, чтобы весь голубой цвет стал желтым.**
18. Измерьте оптическую плотность ячеек при **450 нм  $\pm$  10 нм** в течении **15 минут**.

#### ВЫЧИСЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ.

**Вычислите среднюю абсорбцию для каждого набора стандартов, контролей и образцов.**

1. Определите среднюю абсорбцию для каждого набора стандартов, контроля и образцов. Используя линейную или полулогарифмическую бумагу, отметьте точки значений поглощения стандартов на вертикальную ось Y, а соответствующие концентрации на горизонтальную ось X.
2. Используйте среднее значение поглощения для каждого образца, чтобы определить соответствующее значение концентрации B2MG в мкг/мл простой интерполяцией со стандартной кривой.

#### ПРОЦЕДУРА ТЕСТА ДЛЯ ОБРАЗЦОВ МОЧИ

1. Образцы мочи необходимо 10 кратно разбавить разбавителем образцов (напр. 50 мкл мочи + 450 мкл разбавителя образцов).
2. Следуйте схеме процедуры для тестирования сыворотки / плазмы (шаг 2-18).

#### ВЫЧИСЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ДЛЯ ОБРАЗЦОВ МОЧИ

1. Вычислите среднюю абсорбцию для каждого набора стандартов, контролей и образцов.
2. Используя графическую бумагу, отметьте точки значений поглощения стандартов на вертикальную ось Y, а соответствующие концентрации на горизонтальную ось X.

3. Используйте среднее значение поглощения для каждого образца, чтобы определить соответствующее значение концентрации B2MG в мкг/мл. разделите вычисленное значение на 10,1 (Поскольку B2MG стандарты были предварительно разбавлены 101 кратно, результаты, полученные для образцов мочи должны быть разбавлены 10,1). Например, если вычисленная величина для образцов мочи из стандартной кривой равна 2,40 мкг/мл, то реальное значение будет 2,40 мкг/мл :10,1 + 0,238 мкг/мл.

#### ПРИМЕР ТИПИЧНОЙ СТАНДАРТНОЙ КРИВОЙ

Результаты типичного измерения поглощения стандартов против концентрации B2MG. Следующие данные предназначены только для демонстрации и не должны использоваться во время тестирования:

B2MG (мкг/мл)	Абсорбция (450 нм)
0	0,052
0,625	0,377
1,25	0,745
2,5	1,414
5,0	2,085
10,0	2,942

#### ПРИМЕР КРИВОЙ СМОТРИ В ОРИГИНАЛЬНОЙ ИНСТРУКЦИИ

#### ОЖИДАЕМЫЕ ЗНАЧЕНИЯ И ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ.

Здоровые индивиды имели значение B2MG в сыворотке или плазме равно 0-2,0 мкг/мл и значение в мочи 0-0,3 мкг/мл. Минимально определяемая чувствительность установлена 0,1 мкг/мл.

#### Информация для заказа:

**ЧМП «ДИАМЕБ»**  
 Ул. Чорновола, 97,  
 г. Ивано-Франковск, 76005  
 Тел.: +38 (0342) 77 51 22  
 Тел/факс: +38 (0342) 77 56 12  
 E-mail: [info@diameb.com](mailto:info@diameb.com)