

НАБІР FITC ДЛЯ ВИЗНАЧЕННЯ АНТИРАБІЧНОГО МОНОКЛОНАЛЬНОГО ГЛОБУЛІНУ

800-092, FITC Anti-Rabies Monoclonal Globulin

Каталог. №: 800-092

Методика від без дати

Виробник : Fujirebio Diagnostics,
Inc., (Швеція)



Основою при проведенні аналізу є оригінал інструкції англійською мовою, вкладеної в набір. Номер і дата версії оригіналу та перекладу інструкції повинні співпадати.

НАЗВА ТА ПРИЗНАЧЕННЯ

Справжній набір використовується в процедурі прямої флуоресценції антитіл для in Vitro визначення сказу в мізках і підшелепних залозах.

ВСТУП І ПОЯСНЕННЯ МЕТОДУ (Див. оригінал інструкції англ. мовою).

ЗАСТЕРЕЖЕННЯ

1. Набір призначений для діагностичного in Vitro використання. Дотримуватись інструкцій щодо використання.
2. При роботі з потенційно інфекційним матеріалом дотримуватись встановлених інструкцій. Використовувати захисний одяг.
3. Всі тестові матеріали деактивувати спалюванням або автоклавування після використання.

ЗБЕРІГАННЯ ТА ТЕРМІН ПРИДАТНОСТІ РЕАГЕНТІВ

1. FDI FITC АНТИРАБІЧНИЙ МОНОКЛОНАЛЬНИЙ ГЛОБУЛІН (ліофілізований) зберігати при температурі 2-8 °С. набір є придатним при зберіганні в ліофілізованому стані.
2. Після розведення при підтримці постійної температури і стерильних умов реагенти залишаються стабільними на протязі мінімум 6 місяців. Зберігати в темряві.
3. Аліквоти розведених реагентів рекомендується зберігати при -20 °С. Уникати повторних циклів заморожування/розморожування.

ЗАБІР РЕАГЕНТІВ І РОБОТА З НИМИ

1. Флуоресцентний аналіз антитіл найбільш часто використовується для зразків мозку та підшелепних залоз. Уникати забруднених лабораторних поверхонь та перехресної контамінації при заборі зразків на сказ.
2. Зразки, які тестуються (зазвичай тканини головного мозку), зберігати при 2-8 °С, якщо вони будуть тестуватись на протязі 24 годин. Якщо зразки зберігаються на протязі довшого періоду, зберігайте їх при -70 °С в запаяних або закритих пробірках.
3. За більш конкретною інформацією щодо забору зразків, їх пакування та транспортування див. список літератури в оригіналі інструкції.

МАТЕРІАЛИ, ЩО ПОСТАЧАЮТЬСЯ

1. FDI FITC АНТИРАБІЧНИЙ МОНОКЛОНАЛЬНИЙ ГЛОБУЛІН (ліофілізований, містить синій контрастний барвник Evans). Розвести з 5.0 мл дистильованої або деіонізованої води. Залишити на 30 хвилин або до повного розчинення.
2. Інструкція.

НЕОБХІДНІ МАТЕРІАЛИ, ЩО НЕ ПОСТАВЛЯЮТЬСЯ З НАБОРОМ

1. Флуоресцентний мікроскоп:
На інтенсивність флуоресценції можуть впливати тип і стан флуоресцентного обладнання, яке використовується. Перевірити інструкцію виробника щодо оптимальних фільтрів. Системи фільтрів, які підходять для FDI FITC АНТИРАБІЧНОГО МОНОКЛОНАЛЬНОГО ГЛОБУЛІНУ, представлені в ТАБЛИЦІ 1.
2. Інкубатор, налаштований на 37 °С.
3. Волога камера.
4. Ванночки для фарбування.
5. Покривні скельця (22 x 50 мм, товщина №1).
6. Фосфатно-Сольовий Буфер, рН 8.5
Зауваження: використовувати хімічно чисті реагенти.

Основні Розчини

A. 0.85% NaCl	8.5 г NaCl/1000 мл дистильованої води
B. 0.067M K ₂ HPO ₄	1.16 г K ₂ HPO ₄ в 100 мл 0.85% NaCl
C. 0.067M KH ₂ PO ₄	0.91 г KH ₂ PO ₄ в 100 мл 0.85% NaCl

Робочий Розчин ФСБ, рН 8.5

100 частин	0.067M K ₂ HPO ₄ (Основний Розчин В)
1 частина	0.067M KH ₂ PO ₄ (Основний Розчин С)

7. Буферне гліцеринове гістологічне середовище
1 частина Робочий Розчин ФСБ, рН 8.5
9 частин Звичайний Гліцерин, А.С.С.

Обережно перемішати (не струшувати)

Зауваження: періодично перевіряйте рН гістологічного середовища. Окислення гліцерину і адсорбція CO₂ з повітря будуть поступово знижувати рН. Гістологічне середовище придатне, поки рН не впаде до 8.3 або нижче.

8. Акрилова чорнильна ручка або восковий олівець.

ПРОЦЕДУРА АНАЛІЗУ

А. Підготовка Слайдів з Відбитками (Контрольний і Тестовий)

1. Скельця з Відбитками Мозку Миші на Вірус Сказу (Позитивний Контроль)
 - a. Прищепити в мозок 3-тижневих-мишей 0.03 мл інокулята, що містить 100 LD₅₀ вуличного вірусу сказу. Відбиток мозку проводити тільки після паралізації мишей.
 - b. Видалити весь мозок; помістити на дерев'яну лопатку. Відрізати передню і задню області мозку; використовувати центральні секції (задня поверхня) для підготовки відбитку.
 - c. Приготуйте два відбитки головного мозку на слайд, злегка торкаючись слайдом поперечного перерізу мозку. Приготуйте не більше 100 відбитків мозку. Дайте висохнути на повітрі при кімнатній температурі протягом 30 хвилин.
 - d. Зафіксувати відбитки в ацетоні при -20 °С протягом 4 годин.
 - e. Висушити скельця після фіксації та зберігати нижче -60 °С.
 - f. Скельця довести до кімнатної температури для імунофлуоресцентного фарбування.
2. Скельця з Відбитками Нормального Мозку Миші (Негативний Контроль)
 - a. Використовувати звичайну 3-тижневу мишу для підготовки мазків відбитків.
 - b. Повторити процедурні кроки (b)-(f) як при підготовці Скельця з Відбитками Мозку Миші на Вірус Сказу (Позитивний Контроль).
3. Тестові скельця з відбитками (зазвичай мозку)
 - a. Відбитки необхідно взяти з наступних областей по обидві сторони мозку: кістковий мозок (стовбур мозку), мозочок і гіпокамп.
 - b. Приготуйте два відбитки на слайд для кожного зразка, взятого як описано в кроках (c)-(f) при підготовці Скельця з відбитками на Вірус Сказу (Позитивний Контроль).

В. Приготування Адсорбуючих Суспензій Мозку Миші

1. Фіксований 20-Відсотковий Вірус Сказу ч (RMB)
 - a. інокуляції 3-тижневих мишей в мозок з 0,03 мл inoculum, що містить 100 LD₅₀ вірусу сказу CVS.
 - b. Коли тварини вмирають, урожай мізки в асептичних умовах
 - c. Зважити матеріал мозку і зробити 20% суспензії (вага / об'єм) в робочому розчині PBS, що містить 0,75% бичачого сироваткового альбуміну фракції В.
 - d. Помістити мізки і BSA розчинник гвинтові кришки гомогенізаторів чашок і зануритися чашки в крижаній бані гомогенізації матеріалу шляхом обробки протягом двох 1-хвилинних сплесків при максимальній швидкості, то дайте суміші постояти (нероздрюкований) протягом 30 хвилин у крижаній бані.
 - e. Центрифуга 330 x г протягом 20 хвилин.
 - f. Титр суспензії в 3-тижневих мишей в мозок. Суспензії, що показують титри LDM 10 "або вище в 0,03 мл повинен бути прийнятним. Зберігати при -70 °С.
2. Нормальна 20 відсотків мозку миші Підвіски (НМБ)
 - a. Використовуйте нормальні мізки миша від 3-тижневих мишей.
 - b. Виконайте кроки (C) по (e) (пропустити крок F), наданими для підготовки сказу мозку миші підвіски.

С. Процедура забарвлення

1. Зніміть позитивний, негативний, а тест враження слайди з холодильника і дозволяють зрівноважити до кімнатної температури.

2. Обхопіть кожен враження з акриловою чорнилом або вощеного олівцем.
3. Розвести прями іноземні інвестиції FITC проти сказу моноклональні глобуліну, як зазначено сполучені слід використовувати в нерозведеному вигляді. (Попереднє титрування повинно бути зроблено, щоб забезпечити, принаймні надлишок антитіл в 10 рази).
4. для фарбування слайдів Використання сказу адсорбувати суспензій (РАН):
 - a. Видалити вірус сказу і нормальні адсорбувати суспензії з холодильника; дозволити, щоб врівноважити до кімнатної температури.
 - b. Підготовка 1:5 розбавлення кон'югату в РАН і НМБ. потім інкубували при кімнатній температурі протягом 30 хвилин.
 - c. гр. На кожній дослідній і контрольній слайда, закрити одну враження сполученої розведення, отриманого в нормальному мозку миші; покрити інше враження з сполученої розведення, отриманого в вірус сказу інфікованих мозку миші
 - d. д Інкубують у вологій камері при 37 ° С протягом 30 хвилин.
5. Для Stain слайдів без використання Сказ адсорбувати підвіска (РАН):
 - a. Обкладинка кожного враження, сполучених розведеного 1: 5 в PBS 0,75% альбуміну фракції бичачої сироватки В.
 - b. Інкубують у вологій камері при 37 ° С протягом 30 хвилин.
6. Видаліть надлишки кон'югату зі слайдів стисло промивки робочого розчину PBS. Далі, мити слайди протягом 10 хвилин з робочого розчину PBS. Зміна робочого розчину PBS один раз протягом цього часу.
7. Промити один раз, коротко, з дистильованою водою, щоб видалити сіль.
8. Дайте висохнути на повітрі.
9. Встановіть покривні з буферизацією гліцерину монтажу середовища.
10. Перевірте слайди за допомогою флуоресцентного мікроскопа протягом 2 годин



ОФІЦІЙНИЙ ДИСТРИБ'ЮТОР

ТОВ «ДІАМЕБ»
вул.Чорновола, 97
м. Івано-Франківськ, 76005
тел.: +38 (0342) 775 122
факс: +38 (0342) 775 123
e-mail: info@diameb.ua
www.diameb.com