

НАБІР ІФА

**ДЛЯ КІЛЬКІСНОГО ВИЗНАЧЕННЯ
ЛЮДСЬКОГО ІНСУЛІН-ПОДІБНОГО
ФАКТОРУ РОСТУ-II (IGFBP-БЛОКОВАНИЙ)**

E-30, IGF-II ELISA

Каталог. №: E30

Методика від 22-12-2011

Кількість : 96

Версія 7

Виробник : Mediasyst (Німеччина)



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

ТЕХНІЧНІ ХАРАКТЕРИСТИКИ + ЗАСТОСУВАННЯ

- Вимірювання IGF-II в не виділених зразках сироватки та плазми
- Калібрований проти Міжнародного стандарту: BOO3 NIBSC 96/538
- Немає інтерференції IGF-зв'язуючих білків з надлишковим IGF-I
- Точне вимірювання дуже низьких рівнів IGF-II: **висока чутливість 0.02 нг/мл**
- Інтер- і Внутрішньосерійна варіативність: максимальна 7.2 і 6.6%

ВСТУП (Див. оригінал інструкції).

ПРИЗНАЧЕННЯ

Наукові дослідження в галузі неонатальної гіпертрофії (IGF-II є фактором росту плода) і злоякісних новоутворень (IGF-II є монотонним фактором росту). Референтні значення в залежності від віку наведені в таблиці 4.

IGF-II може бути використаний для диференціальної діагностики злоякісних новоутворень. Таким чином, можна диференціювати за допомогою IGF-II між аденокарциномою карциномами і аденомами (24). Подальше визначення стадій раку і відмінностей між гіперплазією і карциномою може бути досягнуто шляхом вимірювання IGF-II в пухлині простати (25). IGF-система може бути доречною в визначенні нейрогенерациї, а також, наприклад, хвороб Альцгеймера і Паркінсона (26).

ПРИНЦИП

Mediasyst ELISA для визначення IGF-II E30 є так званим сендвіч-аналізом. Він використовує два конкретні антитіла з високою спорідненістю для цього білка. Перше антитіло, іммобілізоване на поверхні лунок планшета, і додане друге біотинильоване антитіло зв'язуються з IGF-II у зразку. Ферментний кон'югат Стрептавідин-Пероксидази потім зв'язується з комплексом. У кінцевій субстратній реакції зміна кольору буде високо специфічно каталізована, в залежності від рівня IGF-II в зразках.

Комплекс IGF-II-IGFBP дисоціює при розведенні в кислому буфері. IGFBP блокуються надлишком IGF-I, таким чином дозволяючи вимірювання вільного IGF-II. За допомогою цього методу IGFBP не видаляються, але їх функції і, отже, їх втручання в аналіз нейтралізуються. Через низьку перехресну реактивність антитіл IGF-II з IGF-I, надлишок IGF-I не впливає на взаємодію першого антитіла з IGF-II.

РОБОЧІ ХАРАКТЕРИСТИКИ І ОЦІНКА

IGF-II ІФА E30 калібрується за Міжнародним стандартом: BOO3 NIBSC 96/538.

Стандартами ІФА E30 є людські IGF-II в концентраціях **0.45; 1.5; 3; 5.63 і 9 нг/мл**, відповідно діапазон аналізу складає - при рекомендованому нормальному розведенні зразка - **до 2400 нг/мл**. Змінюючи розведення зразка значення можуть бути адаптовані до особливих індивідуальних вимог.

Чутливість

Аналітична чутливість ІФА E30 становить **0.02 нг/мл** (2 SD нульового стандарту в 20X визначеннях).

Між- і Внутрішньосерійні коефіцієнти варіації становлять 7.2% і 6.6% відповідно. Приклади визначення представлені в таблицях 1 і 2.

Таблиця 1: Варіації в аналізі (n=12)

	Середнє значення (нг/мл)	Стандартне відхилення (нг/мл)	Коефіцієнт варіації (%)
Зразок 1	381.53	27.54	7.22
Зразок 2	817.81	57.70	7.06
Зразок 3	639.41	45.47	7.11

Таблиця 2: Варіації між аналізами (n=16)

	Середнє значення (нг/мл)	Стандартне відхилення (нг/мл)	Коефіцієнт варіації (%)
Зразок 1	666.38	20.45	3.07
Зразок 2	875.22	57.89	6.61

Через високу специфічність використовуваних антитіл ендогенна і структурна схожість існуючих IGF-I у змінних концентраціях в зразках не впливають на правильність визначення IGF-II до 1000 нг/мл (Див. Таблицю 3).

Таблиця 3: Залежність певної концентрації IGF-II від вмісту IGF-I у зразках

Додавання IGF-I (нг/мл)	Зразок сироватки (нг/мл)	NIBSC 96/538 у Буфері для зразків (нг/мл)
0	603	3.49
100	630	3.39
250	605	3.44
500	614	3.59
1000	604	3.68

ЗАБІР, ПІДГОТОВКА ТА ЗБЕРІГАННЯ ЗРАЗКІВ

Зразки сироватки, а також зразки гепаринової, EDTA і цитратної плазми підходять для використання. Необхідно врахувати можливе розбавлення зразка антикоагулянтном.

Крім того, наступні зразки також можуть бути використані: сеча, слина (низька концентрація, принаймні, розведення 1:10), спинномозкова рідина (принаймні, розведення 1:10) і середа для культивування клітин (включаючи 5% FCS, принаймні, 1:5 розведення). Концентрація IGF-II в інших рідинах організму або супернатантах культури клітин може відхилятися сильно від значень в сироватці крові.

Зразки повинні бути оброблені відповідно до рекомендацій в цілому: аналіз проводити як можна швидше і охолодження проводити якомога швидше. У разі, якщо буде більш тривалий період між забором зразка та його аналізом, зберігати нерозбавлені зразки замороженими при -20 °C або нижче в пластикових пробірках, які щільно закриваються. Уникайте принципово повторних циклів заморожування-відтавання сироватки/плазми (при необхідності, будь ласка, аліквотуйте), хоча рівні IGF-II не залежали від декількох циклів в наших експериментах.

IGF-II ІФА E30 робить можливим правильне визначення зразків, починаючи з розведення 1:401 над вищим діапазоном концентрацій. Висока чутливість аналізів дозволяє визначення IGF-II в малих обсягах зразків, які обмежені за допомогою точності піпетування, а не кількістю IGF-II. В загальному, для сироватки або плазми **найкращим є розведення 1:401**. Проте, відповідне розбавлення, яке буде підходити, необхідно спочатку визначити.

Пропозиція щодо розбавлення:

Будь ласка, піпетуйте 2000 мкл Буфера для зразків PP в PE/PP-пробірки (застосування мульти-степлера рекомендується в більших серіях); згодом додайте 5 мкл сироватки або плазми (розведення 1:401). Після змішування використовуйте **50 мкл цього розведення на одне визначення**.

Оскільки точність піпетування може зростати з використанням 10 мкл зразка, альтернативним є 2-стадійне розбавлення; для цього піпетуйте 1000 мкл Буфера для зразків PP в PE/PP-пробірки, додайте 10 мкл зразка (зразки розбавлені 1:101), змішайте з цього розчину 50 мкл з 150 мкл Буфера для зразків (зразки розведені 1:404). Після змішування використовуйте **50 мкл цього розчину на одне визначення**.

РЕАГЕНТИ, ЩО ПОСТАЧАЮТЬСЯ

1)	Мікропланшет, готовий до використання: Мікропланшет з 96 лунками, розділеними на 12 смужок з 8 лунками кожна, які відокремлюються, покритих анти-людським IGF-II антитілом; упакований в ламінований пакет.
2)	Стандарти А-Е, ліофілізовані, містять людський IGF-II. Стандарти значення між 0.45 і 9 нг/мл (0.45; 1.5; 3; 5.63; 9 нг/мл) IGF-II і повинні бути відновлені в 500 мкл (кожен) в Буфері для зразків PP. Після використання зберігати відновлені стандарти в оригінальних флаконах при -20 ° C. При новому використанні стандартів, будь ласка, дозволяйте їм танути швидко, але обережно (не підвищувати температуру над температурою в приміщенні і не використовувати потужного змішування); 3 з цих циклів заморожування-відтавання не показали ніякого впливу на аналіз. 50 мкл на лунку використовуються в аналізі

3)	Буфер для зразків PP, 125 мл , готовий до використання; будь ласка, використовуйте для приготування стандартів та контролю і для розведення зразків і контролів
4)	Контрольна сироватка KS1, KS2, 250 мкл , ліофілізована, містить сироватку людини і має бути відновлена в 250 мкл Буфера для зразків PP . Відновлені Контрольні сироватки повинні зберігатися в оригінальних флаконах при -20 °C після використання. При новому використанні стандартів, будь ласка, дозвольте їм танути швидко, але обережно (не підвищувати температуру над температурою в приміщенні і не використовувати потужного змішування); 3 з цих циклів заморожування-відтавання не показали ніякого впливу на аналіз. Концентрації цільових значень IGF-II і відповідні діапазони наведені на етикетках флаконів з реагентами. Розбавлення контрольної сироватки повинно бути виконано у відповідності до розведення зразків.
5)	Кон'югат антитіл АК, 6 мл , готовий до використання, містить біотинильовані анти-IGF-II антитіла. Використовувати 50 мкл на кожну лунку в аналізі.
6)	Ферментний кон'югат ЕК, 12 мл , готовий до використання, містить Пероксидазу хрому, кон'юговану зі Стрептавідином; використовувати 100 мкл для кожної лунки в аналізі.
7)	Промивний Буфер (WP), 50 мл, 20-кратний концентрований розчин. Промивний Буфер (WP) повинен бути розведений 1:20 дистильованою або демінералізованою водою перед використанням (наприклад, додати весь вміст колби (50 мл) в мірну колбу і залити дист. водою до 1000 мл). Увага: Після розведення Промивний Буфер є стабільним тільки на протязі 4 тижнів, розвести тільки необхідну кількість.
8)	Субстрат (S), 12 мл , готовий до використання, субстрат пероксидази хрому-(HRP), стабілізований H ₂ O ₂ Тетраметилбензидином.
9)	Стоп-розчин (SL), 12 мл , готовий до використання, 0.2 М сірчана кислота. Увага, кислоти!
10)	Ущільнювальна стрічка для покриття поверхні лунок планшета, 2 х, така, що клеїться.

НЕОБХІДНІ МАТЕРІАЛИ, ЯКІ НЕ НАДАЮТЬСЯ

Точні піпетки і багатоканальні піпетки зі змінними пластиковими наконечниками
Дистильована або деіонізована вода для розведення Промивного Буфера (WP)
Вортесний міксер
Мікропланшетний Шейкер (350 об/хвилину)
Мікропланшетний Вошер (рекомендується)
Мікропланшетний Рідер ("ІФА-рідер") з фільтром на 450 і ≥ 590 нм
Поліетиленові ПЕ/Поліпропіленові ПП пробірки для розведення зразків

Технічні примітки

Аналіз повинен проводитися суворо з дотриманням протоколу випробування.

Реагенти з різних серій не можуть бути змішані. Мікропланшет і реагенти стабільні до зазначеного терміну, якщо зберігаються в закритому і захищеному від сонячних променів місці при 2 - 8 °C.

Відкриття не впливає на термін зберігання компонентів, якщо вони використовуються належним чином.

Перед використанням привести всі реагенти до кімнатної температури (20-25 °C). Можливі опади в буферах необхідно розчинити перед використанням шляхом змішування та/або нагрівання.

Інкубація при кімнатній температурі означає: 20-25 °C.

Етапи інкубації слід проводити при середній частоті обертання на найкраще підходящому мікропланшетному шейкері. Ми рекомендуємо 350 об/хвилину. У зв'язку з певними технічними відмінностями можливі відхилення, у випадку, якщо частота обертання повинна бути відрегульована. Недостатнє струшування може привести до неадекватного перемішування розчинів і тим самим, до низьких оптичних густин, високих варіацій і/або помилкових значень; надмірне струшування може стати причиною високих оптичних густин та/або помилкових значень.

Правильне промивання має принципове значення для безпечного, надійного та точного виконання тесту. Неповне промивання є частою помилкою і негативно позначається на тестовому результаті. Можливими наслідками можуть бути не контрольовані неспецифічні варіації вимірюваних оптичних густин, що може призвести до помилкових результатів розрахунків досліджених зразків. Ефекти, такі як високі фонові значення або високі варіації, можуть вказувати на проблеми промивання.

Всі промивання повинні виконуватися за допомогою доданого промивального буфера, розведеного до концентрації використання. Обсяг на цикл промивки та на лунку має бути 300 мкл, щонайменше. Небезпека в роботі з потенційно інфекційним матеріалом повинна бути прийнята до уваги.

При використанні автоматичного мікропланшетного вошера, відповідні інструкції щодо використання мають бути дотримані. Повинні бути виконані налаштування пристроїв, наприклад, геометрія пластили і наданих параметрів промивання. Колектор для дозування та аспірації не повинен дряпати поверхню всередині лунки. Розрахунки повинні бути зроблені таким чином, щоб обсяг

залишкової рідини кожного кроку аспірації зводився до мінімуму. Після останнього кроку аспірації кожного циклу промивки, це можна контролювати, і можливий залишок рідини може бути видалений, перевертанням планшета і неодноразовим постукуванням ним по сухому фільтрувальному паперу.

Ручне промивання є адекватним альтернативним варіантом. Промивний Буфер може бути розподілений через мультикроковий пристрій, за допомогою багатоканальної піпетки, або пульверизатор. Рідина може бути вилучена шляхом динамічного витрушування з планшета в раковину. Якщо використовуються аспіраційні пристрої, переконайтеся, що поверхня всередині лунки не дряпається. Після кожного кроку промивання можливий залишок рідини може бути видалений перевертанням планшета і неодноразовим постукуванням ним по сухому фільтрувальному паперу.

Стандарти і Контролі

Для відновлення ліофілізованих компонентів (Стандарти А-Е та Контрольна Сироватка KS1 & KS2) Буфер для зразків PP повинен бути використаний. Рекомендується тримати відновлені реагенти при кімнатній температурі протягом 15 хвилин, а потім змішати їх ретельно, але обережно (без утворення піни) за допомогою Вортеса.

Відновлені стандарти і контролі можна зберігати протягом 3-х місяців при температурі -20 °C. Повторних циклів заморожування/відтавання слід уникати. При новому використанні стандартів, будь ласка, дозвольте їм танути швидко, але обережно (не підвищувати температуру над температурою в приміщенні і не використовувати потужного змішування); 3 з цих циклів заморожування-відтавання не показали ніякого впливу на аналіз.

Промивний буфер

Необхідний обсяг Промивного Буфера отримують шляхом розведення 1:20 наданого 20-кратного концентрату з деіонізованою водою. Розбавлений Промивний Буфер залишається стабільним протягом максимум 4 тижнів при 2-8 °C.

Розчин субстрату

Розчин субстрату S, стабілізований H₂O₂-Тетраметилбензидином, є світлочутливим - зберігати і інкубувати в темряві.

Мікропланшет

Зберігати невикористані мікротитраційні смужки і лунки разом з осушувачем в щільно закритій упаковці при 2-8 °C, використовувати з тримачем, що додається. Строк придатності не зменшується в разі правильного зберігання.

ПОПЕРЕДЖЕННЯ І ЗАСТЕРЕЖЕННЯ

Тільки для діагностики в лабораторних умовах. Тільки для професійного використання.

Перед початком аналізу прочитайте інструкцію повністю й уважно. Використовуйте дійсну версію інструкції, вкладеної в упаковку, що постачається в комплекті. Переконайтеся, що все зрозуміло. Mediagnost GmbH не несе відповідальності за будь-які збитки чи шкоду, заподіяні через недотримання інструкції.

Температура впливає на значення оптичних щільностей аналізу. Проте, це не вплине на значення для зразків пацієнтів.

Не використовуйте прострочені реагенти.

Використовуйте окремі наконечники для кожного зразка, контролю та реагенту, щоб уникнути перехресного забруднення. Використовуйте резервуари тільки для окремих реагентів. Це особливо відноситься до пробірок з субстратами. Використання пробірки для піпетування розчину субстрату, яка раніше була використана для розчину кон'югату, може призвести до зафарбовування розчину. Не виливайте реагенти назад у флакони, тому, що може відбутися забруднення реагенту. Змішуйте вміст мікропланшетний лунок ретельно для забезпечення хороших результатів випробувань. Не використовуйте повторно лунки. Не дозволяйте лункам висохнути протягом аналізу, додавайте реагенти негайно після закінчення кроку промивки.

Увага: Цей набір містить матеріали людського та/або тваринного походження.

Сироватки людини

Міститься в наступних компонентах: **Контрольна Сироватка KS1 і KS2.**

Джерела сироваток людини були протестовані рекомендованими FDA методами і виявили відсутність реакції на поверхневий антиген до Гепатиту В (HBsAg), на антитіла до Вірусу гепатиту С (HCV), і Вірусу імунодефіциту людини 1 і 2 (ВІЛ).

Жоден з відомих методів випробувань не може запропонувати повну впевненість у відсутності інфекційних агентів, тому всі компоненти і зразки пацієнта повинні розглядатися як потенційно інфіковані.

Стоп розчин містить 0.2 М Сірчаної Кислоти (H₂SO₄)

R36/38 Подразнює очі і шкіру

- S26 У випадку потрапляння в очі негайно промити великою кількістю води і звернутися до лікаря
- S28.1 При контакті зі шкірою негайно промити великою кількістю води
- S36/37 Використовувати захисний одяг і рукавички

2-Метил-4-Ізотіазолін-3-один

міститься в таких компонентах: **AK, EK, VP, PP**

< 0.01% Розчин 2-Метил-4-ізотіазолін-3-один

- R34 подразнює очі і шкіру
- R43 Можливість сенсibiliзації через контакт зі шкірою
- S26 У випадку потрапляння в очі негайно промити великою кількістю води і звернутися до лікаря
- S36/37 Використовувати захисний одяг і рукавички
- S45 У випадку аварії або при поганому самопочутті звернутися до лікаря

5-хлор-2-метил 2Н ізотіазол-3-один і 2-метил-2Н-ізотіазол-3-один

міститься в таких компонентах: **AK, EK, VP, WP, PP**

< 0.01% (вага/вага) Розчин 5-хлор-2-метил 2Н ізотіазол-3-один і 2-метил-2Н-ізотіазол-3-один

- R36/38 подразнює очі і шкіру
- R43 Можливість сенсibiliзації через контакт зі шкірою
- S26 У випадку потрапляння в очі негайно промити великою кількістю води і звернутися до лікаря
- S28.1 При контакті з шкірою негайно промити великою кількістю води

TMB-Субстрат (S) містить 3,3', 5,5' Тетраметилбензидин

- R20/21/R22 Шкідливий при вдиханні, при контакт з шкірою і при ковтанні
- R36/37/38 Дратує очі, дихальні органи і шкіру
- S26 У випадку потрапляння в очі негайно промити великою кількістю води і звернутися до лікаря
- S28.1 При контакті з шкірою негайно промити великою кількістю води
- S36/37 Використовувати захисний одяг і рукавички

Загальні заходи швидкої допомоги:

Контакт зі шкірою: Промити уражену ділянку водою. Позбутися забрудненого одягу і взуття.

Попадання в очі: У разі попадання в очі негайно промити великою кількістю води протягом 15 хвилин.

З метою забезпечення дієвого полоскання розкрити очі.

Попадання всередину: Проквотнувши прополоскати рот ретельно з водою. Відразу звернутися до лікаря.

Не їсти, не пити і не палити в зоні роботи.

Ніколи не піпетувати ротом.

Пролитий матеріал повинен бути стертий відразу і повинен бути дезінфікований. Очистіть забруднені області та обладнання за допомогою відповідного миючого засобу.

ПРОЦЕДУРА ТЕСТУВАННЯ

ПРИМІТКИ: Всі визначення (Стандарти, Контрольні Сироватки і зразки) слід аналізувати у двох примірниках. Для отримання оптимальних результатів акуратне піпетування і дотримання протоколу рекомендується.

При виконанні аналізу Стандарти, Контрольна Сироватка і зразки повинні піпетуватися якомога швидше (наприклад, < 15 хвилин). Щоб уникнути спотворень через відмінності в часі інкубації Ферментний кон'югат **EK**, розчин субстрату **S**, а також **Стоп-Розчин SL** слід додавати до пластини в тому ж порядку і в тому ж часовому інтервалі кожен, відповідно.

- Додати **50 мкл Кон'югату Антитіл AK** в усі лунки, що використовуються
- Внести в позицію A1/2 **50 мкл Буферу для Зразків PP**
- Внести в позицію B1/2 **50 мкл Стандарту A (0.45 нг/мл)**, Піпетувати в позицію C1/2 **50 мкл Стандарту B (1.5 нг/мл)**, Піпетувати в позицію D1/2 **50 мкл Стандарту C (3 нг/мл)**, Піпетувати в позицію E1/2 **50 мкл Стандарту D (5.63 нг/мл)**, Піпетувати в позицію F1/2 **50 мкл Стандарту E (9 нг/мл)**. Щоб контролювати правильне виконання аналізу **50 мкл розведення 1:401** (або у відповідному співвідношенні розбавлення зразків) в буфері для зразків розбавлені **Контрольні сироватки KS1/KS2** можуть бути внесені в позиції G1/2 і H1/2. Піпетувати **50 мкл** кожного з розведених зразків (наприклад, розбавити 1:401 Буфером для зразка **PP**) в решту лунок, відповідно до необхідності.
- Покрити лунки з ущільнювальною стрічкою і інкубувати пластини протягом **2 годин при кімнатній температурі** (на швидкості 350 об/хвилину)
- Після інкубації аспірувати вміст лунок і промити лунки **5 разів 300 мкл Промивного буфера WP**/на лунку.

- Після останнього етапу промивання піпетувати **100 мкл Ферментного Кон'югату EK** в кожну лунку.
- Покрити лунки з ущільнювальною стрічкою і інкубувати планшет протягом **30 хвилин при кімнатній температурі** (на швидкості 350 об/хвилину)
- Після інкубації промити лунки **5 разів Промивним Буфером WP**, як описано в пункті 5.
- Піпетувати **100 мкл Розчину Субстрату S** в кожну лунку.
- Витримати планшет протягом **30 хвилин в темряві при кімнатній температурі**.
- Зупинити реакцію додаванням **100 мкл Стоп-розчину SL** в усі лунки.
- Виміряти абсорбцію протягом **30 хвилин при 450 нм (Референтний фільтр ≥ 590 нм)**

ПІДРАХУНОК РЕЗУЛЬТАТИВ

Для оцінки аналізу потрібно, щоб значення абсорбції бланка було нижче 0.25, і оптична щільність Стандарту E повинна бути вище 1.00. Зразки, які дають більш високі значення абсорбції, ніж значення Стандарту E, знаходяться поза стандартною кривою; для надійних визначень такі зразки повинні бути повторно протестовані при більш високому розведенні.

Побудова стандартної кривої

Стандарти, що надаються, містять наступну концентрацію рекомбінантного hIGF-II:

Стандарт	A	B	C	D	E
нг/мл	0.45	1.5	3	5.63	9

- Розрахувати **середнє значення абсорбції** для бланку з дубльованого визначення (лунка A1/A2).
- Відніміть середню абсорбцію бланку від середніх абсорбцій всіх інших значень.
- Відкласти значення концентрацій стандартів по осі x навпроти середніх значень оптичної щільності стандартів на осі ординат.
- Рекомендація: Розрахунок стандартної кривої має бути зроблено за допомогою комп'ютерної програми, тому що крива в цілому (без відповідного перетворення) не ідеально описує лінійну регресію. Як правило, підходять наступні методи для оцінки: Вищого класу поліноміальний, 4-параметричний логістичний (4-PL) або нелінійної регресії.
- Концентрація IGF-II в нг/мл у зразках може бути обчислена шляхом множення на відповідний коефіцієнт розведення.

ОЧІКУВАНІ ЗНАЧЕННЯ

Таблиця 4: Сироваткові рівні IGF-II в нг/мл у здорових людей у різному віці*

Вікова група	Процентиль		
	5-ий	50-ий	95-ий
Новонароджені	158	284	516
1-4 тижні	350	486	673
1-6 місяців	348	551	871
6-12 місяців	388	582	876
1-3 роки	384	596	926
3-5 років	397	617	920
5-7 років	419	638	973
7-9 років	433	656	997
9-11 років	442	662	994
11-13 років	448	671	1006
13-15 років	455	679	1014
15-17 років	452	686	1042
20-30 років	436	679	1058
30-40 років	442	680	1049
40-50 років	407	650	1039
50-60 років	396	644	1049
60-70 років	373	611	1000

РЕЗЮМЕ - MEDIAGNOST IGF-II ФА E30

Відновлення / Розведення реагентів		
Стандарти A-E	Відновлення в Буфері для Зразків PP	500 мкл
Контрольна сироватка KS1	Відновлення в Буфері для Зразків PP	250 мкл
Контрольна сироватка KS2	Відновлення в Буфері для Зразків PP	250 мкл
Промивний Буфер WP	Розбавити в Дист. воді (Наприклад, загальний обсяг 50 мл в мірній колбі і заповнити до 1000 мл)	1:20
Зразок + Контрольна Сироватка KS1 і KS2: розбавити 1:401 в Буфері для Зразків PP, негайно перемішати, інкубувати принаймні, протягом 15 хвилин,		

максимум 2 години. Використовувати 50 мкл на кожну лунку в аналізі.
Перед проведенням аналізу привести всі реагенти до кімнатної температури.

Процедура аналізу для Подвійних Визначень:

Піпетувати	Реагент	Позиція
50 мкл	Кон'югат Антитіл АК	у всі лунки, що використовуються
50 мкл	Буфер для зразків PP (Бланк)	A1 і A2
50 мкл	Стандарт A (0.45 нг/мл)	B1 і B2
50 мкл	Стандарт B (1.5 нг/мл)	C1 і C2
50 мкл	Стандарт C (3 нг/мл)	D1 і D2
50 мкл	Стандарт D (5.63 нг/мл)	E1 і E2
50 мкл	Стандарт E (9 нг/мл)	F1 і F2
50 мкл	Контрольна Сироватка KS1	G1 і G2
50 мкл	Контрольна Сироватка KS2	H1 і H2
50 мкл	Зразки	наступні лунки

Покрити лунки з ущільнювальною стрічкою.

Інкубація: 2 год при кімнатній температурі, 350 об/хвилину

5 x 300 мкл	Аспірувати вміст лунок і промити 5x з 300 мкл Миючого буфера WP	кожна лунка
100 мкл	Ферментний Кон'югат EK	кожна лунка

Інкубація: 30 хвилин при кімнатній температурі, 350 об/хвилину

5 x 300 мкл	Аспірувати вміст лунок і промити 5x з 300 мкл Миючого буфера WP	кожна лунка
100 мкл	Субстрат S	кожна лунка

Інкубація: 30 хвилин в темноті при кімнатній температурі

100 мкл	Стоп розчин SL	кожна лунка
---------	-----------------------	-------------

Виміряти абсорбцію протягом 30 хвилин при 450 нм з ≥ 590 нм в якості еталонної довжини хвилі.



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