

НАБОР ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ БОЛЬШОГО ЭНДОТЕЛИНА-1

BI-20082H, big ENDOTHELIN-1

Каталог. № : BI-20082H

Версия 120415

Количество : 96

Производитель: Biomedica (Австрия)



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

1) ВВЕДЕНИЕ (См. оригинал инструкции на англ. языке).

2) РЕАГЕНТЫ, ВХОДЯЩИЕ В СОСТАВ НАБОРА

СОДЕРЖИМОЕ НАБОРА	КОЛИЧЕСТВО
Стрипованный микропланшет с лунками, покрытыми поликлональными овечьими антителами к Большому Эндотелину-1 в запечатанном пакете с осушителем.	12 x 8 тестов
Концентрат промывочного буфера 20х, бесцветный колпачок	1 x 50 мл
Мышиные моноклональные антитела анти человеческого Большого Эндотелина-1, биотин-меченые, красный краситель, зеленый колпачок, готов к использованию	1 x 18 мл
Стандарты человеческой сыворотки, синтетический человеческий Большой Эндотелин-1 (0, 0.10, 0.20, 0.40, 1, 3 пмоль/л), лиофилизированные, белые колпачки	6 флаконов
Контрольная человеческая сыворотка, синтетический человеческий Большой Эндотелин-1, лиофилизированный, желтый колпачок, точные концентрации после восстановления см. на этикетке	1 флакон
Конъюгат, (стрептавидин-HRP0), янтарная крышка, готов к использованию	1 x 22 мл
Субстрат (раствор ТМБ), синяя крышка, готов к использованию	1 x 22 мл
Стоп раствор, белая крышка, готов к использованию	1 x 7 мл

3) ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЕ МАТЕРИАЛЫ, ПОСТАВЛЯЕМЫЕ В НАБОРЕ

- 2 Пленки для накрывания микропланшета
- Протокол контроля качества
- Инструкция
- Протокол анализа и лист для проверки

4) НЕОБХОДИМЫЕ, НО НЕ ПОСТАВЛЯЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ И ОБОРУДОВАНИЕ

- Пипетки переменного объема на 50 мкл, 150 мкл, 200 мкл, 300 мкл, 500 мкл и одноразовые наконечники
- Дистиллированная или деионизированная вода
- Рекомендуется планшетный вошер для промывания альтернативно многоканальная пипетка или дозатор
- Холодильник 4 °C (2-8 °C)
- Микропланшетный ридер с фильтром на 450 нм (или 630 нм)
- Миллиметровая бумага или программное обеспечение для обработки результатов

5) ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ И ОБРАЗЦОВ

Все реагенты набора стабильны при 4 °C (2-8 °C) до истечения срока годности, указанного на этикетке каждого реагента.

Подготовка образца:

Сыворотка и плазма пригодны для использования в данном анализе. Обратите внимание, что уровни BigET могут отличаться между сывороткой и плазмой (см. главу 9). Поэтому не изменяйте тип образца во время анализа. Мы рекомендуем отделить плазму или сыворотку центрифугированием как можно скорее (по крайней мере, в течение одного дня), например, 20 минут при 2,000хg, предпочтительно при 4 °C (2-8 °C). Аликвотировать полученные образцы плазмы или сыворотки и хранить их при -25 °C или ниже. Все образцы должны пройти не более 4 циклов замораживания-оттаивания. Липемичные или гемолизированные образцы могут

давать ошибочные результаты. Образцы должны быть хорошо перемешаны перед анализом. Образцы с измеренной оптической плотностью выше самого высокого STD, могут быть разбавлены тем же Отрицательным образцом матрицы BigET, например, для образцов сыворотки использовать STD1 или отрицательную сыворотку BigET. Мы рекомендуем дубликаты для всех значений.

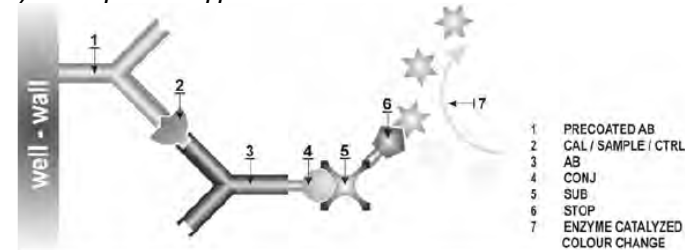
Восстановление/Работа с образцами:

WASHBUF (Промывочный буфер): Развести концентрат 1:20 (1+19), например, 50 мл концентрата + 950 мл дистиллированной воды. Кристаллы в концентрате буфера будут растворяться при комнатной температуре. Буфер остается стабильным при 4 °C (2-8 °C) до окончания срока годности, указанного на этикетке. Используйте только разбавленный WASHBUF (Промывочный буфер) для выполнения анализа.

STD (Standard): Внесите 500 мкл дистиллированной или деионизированной воды в каждый флакон. Оставьте при комнатной температуре (18-26 °C) в течение 10 минут. Аккуратно перемешать. Концентрация стандарта указана на этикетке. Восстановленный Стандарт стабилен при -25 °C или ниже до истечения срока годности. Избегайте циклов замораживания-оттаивания.

CTRL (контроль): Пипетировать 500 мкл дистиллированной или деионизированной воды во флакон. Оставьте при комнатной температуре (18-26 °C) в течение 10 минут. Хорошо перемешать. Конечная концентрация указана на этикетке. Восстановленный контроль стабилен при -25 °C или ниже до истечения срока годности, указанного на этикетке. Избегайте циклов замораживания-оттаивания.

6) ПРИНЦИП МЕТОДА



7) ПРОТОКОЛ АНАЛИЗА

Перед началом анализа все реагенты следует привести к комнатной температуре (18-26°C).

Пометьте на схеме планшета ячейки бланка, стандартов, контролей и образцов.

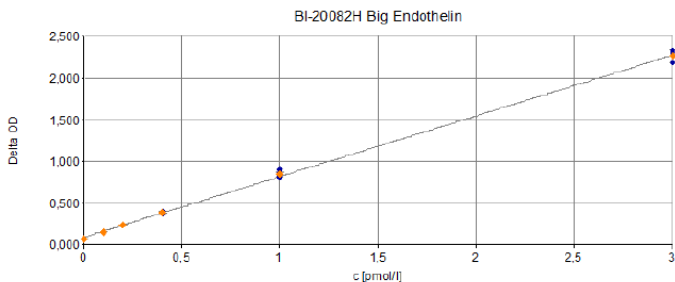
Извлеките из пакета стрипы микропланшета и пометьте их согласно схеме. Одну ячейку отведите под бланк. Неиспользованные стрипы запечатайте обратно в пакет и храните его при 4 °C до истечения срока годности, указанного на пакете.

1. Внесите по 50 мкл образцов, стандартов и контролей в соответствующие ячейки в дублях, кроме бланка.
2. Добавить 150 мкл АВ (биотинилированное анти BigET антитело, зеленый колпачок, красный краситель) в каждую лунку, за исключением пустой, аккуратно перемешать.
3. **Накройте стрипы пленкой и инкубируйте 4 часа при комнатной температуре (18-26°C) в темноте.**
4. Полностью удалите содержимое ячеек и промойте их 5 раз 300 мкл разбавленного промывающего буфера. Удалите остаток жидкости в ячейках после последней промывки переворачиванием стрипов на фильтровальную бумагу.
5. Добавьте 200 мкл конъюгата (Стрептавидин-HRP0, янтарная крышка) во все ячейки.
6. **Накройте стрипы пленкой и инкубируйте 1 час при комнатной температуре (18-26°C) в темноте.**
7. Полностью удалите содержимое ячеек и промойте их 5 раз 300 мкл разбавленного промывающего буфера. Удалите остаток жидкости в ячейках после последней промывки переворачиванием стрипов на фильтровальную бумагу.
8. Внесите по 200 мкл субстрата (Субстрат, синяя крышка) во все ячейки.
9. **Инкубируйте 30 минут при комнатной температуре (18-26°C) в темноте.**
10. Добавьте по 50 мкл стоп раствора во все ячейки, перемешайте содержимое ячеек.
11. Определите оптическую плотность ячеек при 450 нм с фильтром сравнения 630 нм.

8) РАСЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ

Считать оптическую плотность (OD) во всех лунках на ридере с использованием длины волны 450 нм (коррекция волны 630 нм). Вычитите значение OD бланка от значений STD, CTRL и образца. Постройте стандартную кривую по значениям ОП Стандарта. Используйте программное обеспечение или миллиметровую бумагу. Считайте концентрацию образца со стандартной кривой. Анализ оценивали с алгоритмом 4PL. Различные методы подгонки кривой должны быть оценены пользователем. Соответствующие коэффициенты разбавления должны быть учтены. Если ОП самого высокого STD находится вне диапазона измерения фотометра, она может быть измерена при 405 нм (коррекция волны 630 нм).

Пример типичной STD-кривой:



Протокол контроля качества, поставляемый в наборе, предоставляет результаты конечного QC для каждого комплекта на дату производства. Данные по OD, полученные от клиентов, могут отличаться вследствие различных воздействий и/или в связи с естественным снижением интенсивности сигнала во время срока годности. Тем не менее, это не влияет на достоверность результатов до тех пор, пока OD равно 1,00 или выше для стандарта с высокой концентрацией и значение контроля находится в диапазоне (целевой диапазон см. таблицку).

9) ХАРАКТЕРИСТИКИ АНАЛИЗА

Значения, полученные от явно здоровых субъектов (n=41):	Сыворотка: Медиана: 0.09 пмоль/л Каждая лаборатория должна установить собственные границы. Не изменять тип образца во время анализа.
Диапазон стандартов:	0 - 3 пмоль/л
Коэффициент пересчета пг/мл в пмоль/л:	1 пг/мл = 0.2335 пмоль/л (MW: 4.283 кДа)
Объем образца:	50 мкл сыворотки или плазмы человека (цитрат, ЭДТА или гепарин)
Диапазон определения:	(0 пмоль/л + 3 SD): 0.02 пмоль/л
Инкубационное время:	4 часа/1 час/30 минут
Перекрестная реактивность:	ЕТ 1/2/3 (1-21): < 1%, ЕТ 2 (1-37): < 1%, ЕТ 1/2 (1-38): < 1%, проклин BigET (1-39): 21%, BigET 1/2 (22-38): < 1%, BigET2 (22-37): < 1%, крысиный BigET (1-39): 10%, Сарафотоксин: < 1

10) ТОЧНОСТЬ

В анализе: 2 образца известных концентраций были испытаны 5 раз в 1 анализе.

Между анализами: 2 образца известных концентраций были испытаны 10 раз в течение 3 анализов каждый разными операторами.

В анализе (n=5)	Образец 1	Образец 2	Между анализами (n=10)	Образец 1	Образец 2
Среднее (пмоль/л)	0.20	1.00	Среднее (пмоль/л)	0.20	1.00
SD (пмоль/л)	0.003	0.048	SD (пмоль/л)	0.009	0.041
CV %	2 %	5 %	CV %	4 %	4 %

11) ЗАМЕЧАНИЯ ПО МЕТОДИКЕ

- Не используйте реагенты из различных лотов.
- Не допускайте смешивания крышек и флаконов различных реагентов
- Не используйте реагенты по истечении срока годности.
- Раствор субстрата должен оставаться бесцветным до внесения в плашку.
- Для получения точных результатов необходимо тщательной запечатывание плашки пленкой при инкубации.

- Для определения извлечения используйте исходный стандарт эндотелина, разбавленный в 2 мл дистиллированной воды.
- Не используйте лиофилизированные стандарты плазмы для эксперимента по восстановлению
- При смешивании реагентов не допускайте образования пены

12) ПРЕДОСТЕРЕЖЕНИЯ

Компоненты набора содержат материалы человеческого происхождения, которые протестированы методами, одобренными FDA, на отсутствие антител к гепатиту В и ВИЧ. Однако, ни один метод не может гарантировать, что продукты человеческого происхождения не инфицированы. Следовательно, с реагентами и образцами мочи следует обращаться как с потенциально инфекционно опасными.

Все жидкие компоненты набора содержат 0,01% проклин 300 в качестве консервантов.

Проклин 300 не токсичен при концентрации, что используется в наборе. Он может вызвать аллергическую реакцию при контакте с кожей или глазами.

- Не пипетируйте ртом.
- В помещении, где работают с образцами или компонентами набора, нельзя есть, пить и курить
- Используйте защитные перчатки при работе.
- Стоп раствор содержит разбавленную серную кислоту, которая может вызвать раздражение глаз и кожи. При попадании стоп раствора на кожу промойте место контакта большим количеством воды.



ОФИЦИАЛЬНЫЙ ДИСТРИБЬЮТОР

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