

# НАБОР ИФА ДЛЯ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ ЧЕЛОВЕЧЕСКОГО IL-22

## BMS2047/BMS2047TEN, Human IL-22 Platinum ELISA

Каталог. №: **BMS2047/BMS2047TEN**  
Количество: **96, 10x96**  
Производитель: **Bender MedSystems GmbH, (Австрия)**

Методика от **17-09-2012**  
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 Human IL-22 ELISA предназначен для количественного определения человеческого интерлейкина-22. Набор предназначен только для диагностики *in-vitro* и не должен использоваться в терапевтических целях.

### 2. ВВЕДЕНИЕ (См. оригинал инструкции).

### 3. ПРИНЦИП ТЕСТА

Антитела, специфичные к IL-22, сорбированы в ячейках планшета.

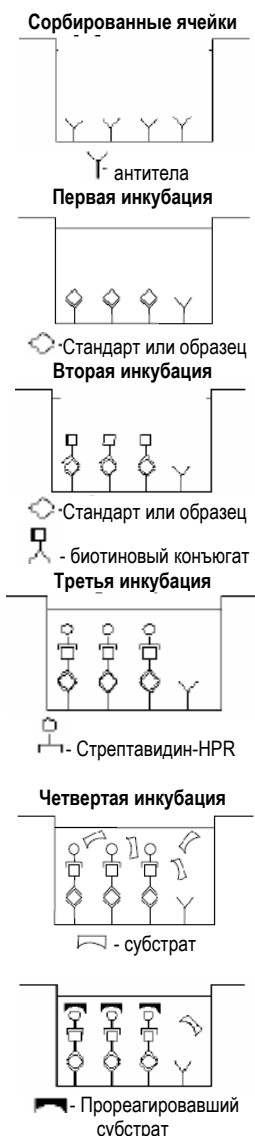
Человеческий IL-22, присутствующий в образце или стандарте, связывается с антителами, адсорбированными в лунках.

После инкубации несвязанные биологические компоненты удаляются во время стадии промывки. Биотинилированные анти-человеческие IL-22 антитела добавляются и связываются с человеческим IL-22, захваченным первым антителом.

После инкубации несвязанные биотин-конъюгированные антитела против человеческого антитела IL-22 удаляются во время стадии промывки. Стрептавидин-HRP добавляется и связывается с биотинилированным анти-человеческим IL-22 антителом.

После инкубации несвязанный стрептавидин-HRP удаляется во время стадии промывки и добавляется раствор субстрата, реактивного с HRP.

Окрашенный продукт образуется пропорционально количеству человеческого IL-22, присутствующего в образце или стандарте. Реакцию прекращают добавлением кислоты и измеряют поглощение при 450 нм. Стандартную кривую строят по 7 значениям стандартных разведений человеческого IL-22 и определяют концентрацию человеческого IL-22 в образце.



### 4. ПОСТАВЛЯЕМЫЕ РЕАГЕНТЫ

#### 4.1 Реагенты в наборе Человеческий IL-22 ELISA BMS2047 (96 тестов)

Микропланшет, покрытый моноклональными антителами к человеческому IL-22	1 планшет
Конъюгат моноклональных анти-IL-22 антител и биотина, 140 мкл	1 флакон
Конъюгат стрептавидина с пероксидазой хрена, 150 мкл	1 флакон
Стандарт, лиофилизированный, 4 нг/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 бутылка
Субстратный раствор (ТМБ), 15 мл	1 флакон
Стоп-раствор (1М фосфорная кислота), 15 мл	1 флакон
Голубой краситель, 0,4 мл	1 флакон
Зелёный краситель, 0,4 мл	1 флакон
Красный краситель, 0,4 мл	1 флакон
Плёнки для заклеивания стрипов	6

#### 4.2 Реагенты в наборе Человеческий IL-22 ELISA BMS2047TEN (10 x 96 тестов)

Микропланшет, покрытый моноклональными антителами к человеческому IL-22	10 планшетов
Конъюгат моноклональных анти-IL-22 антител и биотина, 140 мкл	10 флаконов
Конъюгат стрептавидина с пероксидазой хрена, 150 мкл	10 флаконов
Стандарт, лиофилизированный, 4 нг/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	2 флакона
Промывающий раствор, концентрат 20x (PBS с 1% Tween 20), 50 мл	5 бутылок
Субстратный раствор (ТМБ), 15 мл	10 флаконов
Стоп-раствор (1М фосфорная кислота), 15 мл	10 флаконов
Голубой краситель, 0,4 мл	6 флаконов
Зелёный краситель, 0,4 мл	6 флаконов
Красный краситель, 0,4 мл	6 флаконов
Плёнки 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 культур клеток, сыворотка и плазма (ЭДТК, цитратная, гепариновая) 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 гемолизованные или липемичные образцы.

Образцы необходимо заморозить и хранить при температуре -20 °С, чтобы предотвратить потерю биоактивности IL-22. Если анализ будет выполнен в ближайшие 24 часа, образцы могут храниться при 2-8 °С.

Избегайте повторных циклов замораживания-размораживания образцов. Перед анализом замороженные образцы привести к комнатной температуре и осторожно 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
- Миллиметровая бумага 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 ртом.
- 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 (1x) стабилен 30 дней. Промывающий раствор (1x) также может быть приготовлен согласно следующей таблице:

Количество стрипов	Концентрат Промывочного буфера (20x), 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 Рабочий буфер при 2-8 °С. Рабочий буфер стабилен 30 дней. Рабочий буфер (1 x) также может быть приготовлен согласно следующей таблице:

Количество стрипов	Концентрат Рабочего буфера (20x), мл	Дистиллированная вода, (мл)
1-6	2,5	47,5
1-12	5,0	95,0

### 9.3 Биотиновый конъюгат

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

Приготовьте необходимое количество биотинового конъюгата, разведя концентрат биотинового конъюгата 1:100 **Рабочим Буфером** в чистой пластиковой посуде, согласно таблице:

Количество стрипов	Биотиновый конъюгат, мл	Рабочий Буфер, (мл)
1-6	0.06	5.94
1-12	0.12	11.88

### 9.4 Стрептавидин-HRP

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

Приготовьте необходимое количество **Стрептавидин-HRP**, разведя его 1:200 **Рабочим буфером** в чистой пластиковой посуде, согласно таблице:

Количество используемых стрипов	Стрептавидин-HRP, мл	Рабочий буфер (1x) (мл)
1-6	0.03	5.97
1-12	0.06	11.94

### 9.5 Стандарт человеческого IL-22

Растворите **Стандарт IL-22** в дистиллированной воде. Необходимый объем для растворения указан на этикетке флакона, содержащего стандарт. Осторожно перемешивайте до полного растворения. Конечная концентрация полученного раствора составит 4000 пг/мл. Оставить 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)

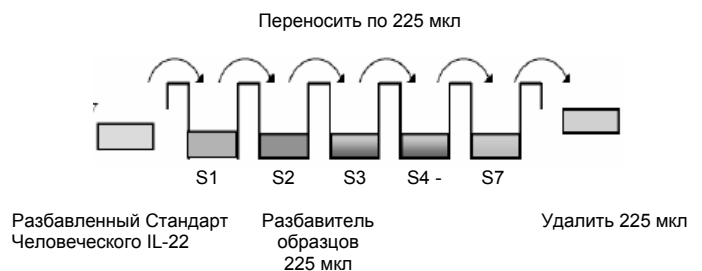
#### 9.5.1 Внешнее разведение Стандарта

Пометить 7 пробирок, одну для каждой точки стандарта. S1, S2, S3, S4, S5, S6, S7.

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 = 4 нг/мл) в первую пробирку, помеченную S1, и перемешать (концентрация стандарта 1 = 2 нг/мл). Пипетировать 225 мкл этого раствора во вторую пробирку, помеченную S2, и тщательно перемешать перед следующим перемешиванием.

Повторить серийные разведения еще 5 раз, таким образом формируя точки стандартной кривой (См. рисунок ниже). Разбавитель образцов служит в качестве бланка.



### 9.6 Добавление окрашивающих реагентов: голубого, зеленого и красного

Для исключения ошибок в пипетировании при работе с иммуноферментными наборами фирма Bender MedSystems теперь предлагает дополнительное средство для контроля пипетирования даже очень маленьких объемов реагентов – каждый реагент будет отличаться от других цветом.

Эта процедура **необязательна**, она не влияет на результаты анализа и предназначена для облегчения работы лаборанта, поэтому можно этот шаг инструкции пропустить (не выполнять).

Альтернативно, можно использовать основные растворы красителей (голубой, зелёный, красный), добавляя их к соответствующему реагенту согласно протоколу (смотри Таблицы ниже).

**1. Разбавитель образцов:** перед разбавлением образцов добавьте **голубой краситель** в соотношении 1:250 (См. Таблицу) в рабочий раствор **Разбавителя образцов** (1x) и выполняйте дальше исследование, следуя инструкции.

5 мл Разбавителя образцов	20 мкл <b>Голубого красителя</b>
12 мл Разбавителя образцов	48 мкл <b>Голубого красителя</b>
50 мл Разбавителя образцов	200 мкл <b>Голубого красителя</b>

**2. Биотиновый конъюгат:** перед разбавлением концентрата Биотинового конъюгата добавьте **зелёный краситель** в соотношении 1:100 (смотри таблицу) к Рабочему буферу, используемому для разбавления конъюгата, окрашенный биотиновый конъюгат используйте согласно инструкции.

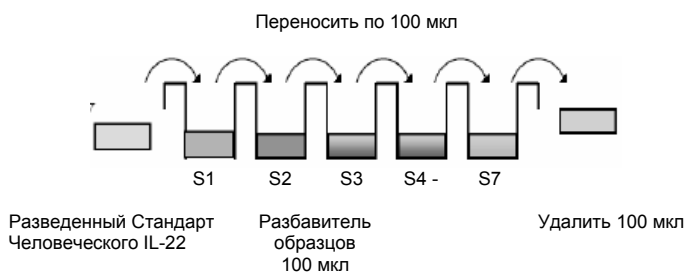
6 мл Рабочего буфера (1 х)	60 мкл <b>Зеленого красителя</b>
12 мл Рабочего буфера (1 х)	120 мкл <b>Зеленого красителя</b>

**3. Стрептавидин-HRP:** перед разбавлением концентрата **Стрептавидин-HRP** добавьте **красный краситель** в соотношении 1:250 (смотри таблицу) к Рабочему буферу, используемому для разбавления конъюгата, окрашенный Стрептавидин-HRP используйте согласно инструкции.

6 мл Рабочего буфера (1 х)	24 мкл <b>Красного красителя</b>
12 мл Рабочего буфера (1 х)	48 мкл <b>Красного красителя</b>

## 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 перевёрнутом виде. **Не позволяйте ячейкам высохнуть!**
- Разведение стандарта на планшете** (альтернативно разбавление стандарта может быть приготовлено в пробирках): Добавьте 100 мкл Разбавителя для образцов в дублях ко всем **стандартам**. Приготовьте стандартные разведения добавлением по 100 мкл приготовленного **Стандарта** (раздел 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 5 раз, получив в итоге 2 ряда разведений **Стандарта IL-22** в диапазоне от 2000.0 до 31.3 пг/мл. Удалите и выбросьте 100 мкл жидкости из последних ячеек (G1, G2).



При **внешнем разведении стандарта** пипетировать 100 мкл этих разведений стандартов (S1-S7) 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 (2000.0 пг/мл)	Ст #1 (2000.0 пг/мл)	О 1	О 1
<b>B</b>	Ст #2 (1000.0 пг/мл)	Ст #2 (1000.0 пг/мл)	О 2	О 2
<b>C</b>	Ст #3 (500.0 пг/мл)	Ст #3 (500.0 пг/мл)	О 3	О 3
<b>D</b>	Ст #4 (250.0 пг/мл)	Ст #4 (250.0 пг/мл)	О 4	О 4
<b>E</b>	Ст #5 (125.0 пг/мл)	Ст #5 (125.0 пг/мл)	О 5	О 5
<b>F</b>	Ст #6	Ст #6	О 6	О 6

	(62.5 пг/мл)	(62.5 пг/мл)		
<b>G</b>	Ст #7 (31.3 пг/мл)	Ст #7 (31.3 пг/мл)	О 7	О 7
<b>H</b>	Бланк	Бланк	О 8	О 8

Ст – Стандарт, О – 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 °С), если возможно, используя орбитальный шейкер, установленный на 400 об/мин.
- Приготовьте **Биотиновый конъюгат** (раздел 9.3).
- Снимите пленку. Полностью удалите содержимое ячеек. **Промойте** ячейки 3 раза 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 °С), если возможно, используя орбитальный шейкер, установленный на 400 об/мин.
- Приготовьте **Стрептавидин-HRP** (раздел 9.4).
- Снимите пленку. Полностью удалите содержимое ячеек. **Промойте** ячейки 3 раза как указано в шаге «b.» настоящего протокола. Переходите немедленно к следующему шагу.
- Внесите по 100 мкл разбавленного **Стрептавидин-HRP** во все ячейки, включая бланк.
- Закройте планшет **плёнкой** и инкубируйте 1 час при комнатной температуре (18–25 °С), если возможно, используя орбитальный шейкер, установленный на 400 об/мин.
- Снимите пленку. Полностью удалите содержимое ячеек. **Промойте** ячейки 3 раза как указано в шаге «b.» настоящего протокола. Переходите немедленно к следующему шагу.
- Внесите 100 мкл **раствора субстрата ТМБ** во все лунки.
- Инкубируйте стрипы при комнатной температуре (18-25 °С) в течение примерно 10 мин. Избегайте прямого воздействия интенсивного 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 добавить стоп-раствор, когда самый высокий стандарт приобрел синий цвет. Альтернативно развитие цвета можно контролировать с помощью считывателя ELISA при 620 нм. Субстратная реакция должна быть остановлена, как только стандарт 1 достиг OD 0,9 - 0,95.

- Остановить ферментативную реакцию быстрым пипетированием 100 мкл **Стоп Раствора** в каждую лунку. Важно, чтобы стоп-раствор добавлялся быстро и равномерно по всем лункам для полной инактивации фермента. Результаты должны быть считаны непосредственно после добавления стоп-раствора или в течение одного часа, если стрипы хранят при 2-8 °С в темноте.
- Измерить оптическую плотность каждой микролунки на спектрофотометре с использованием длины волны 450 нм в качестве основной (опционально использовать длину волны 620 нм в качестве контрольной; 610-650 нм также приемлемы). Обнулить планшет-ридер в соответствии с инструкциями производителя с помощью пустых лунок. Определить поглощения обоих образцов и стандартов.

**Примечание: В случае инкубации без встряхивания значения полученного OD могут быть ниже указанных. Тем не менее, результаты остаются в силе.**

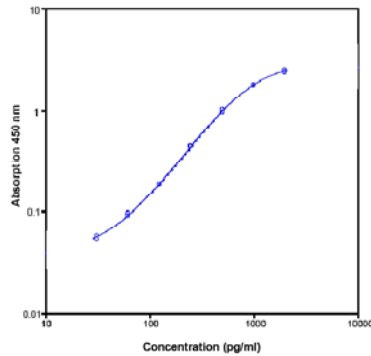
## 11. РАСЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ

- 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-22. на горизонтальную ось X. Проведите оптимальную кривую по точкам.
- Определите концентрации IL-22. 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-22 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 ложным, низким уровням человеческого IL-22. Такие образцы требуют дальнейшего внешнего предварительного разведения в соответствии с ожидаемыми значениями человеческого IL-22 для разбавления проб для точного количественного определения реального человеческого IL-22.
- Подразумевается, что в каждую серию анализа включается контрольный образец с известной концентрацией IL-22. 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-22. IL-22 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-22, пг/мл	ОП, (450 нм)	ОП, среднее	CV, %
1	2000.0	2.349 2.475	2.412	3.7
2	1000.0	1.774 1.811	1.792	1.4
3	500.0	0.944 1.016	0.980	5.2
4	250.0	0.436 0.443	0.439	1.2
5	125.0	0.185 0.186	0.185	0.3
6	62.5	0.096 0.090	0.093	4.3
7	31.3	0.057 0.053	0.055	4.8
Бланк	0.00	0.017 0.019	0.018	

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. Стеклопосуда должна быть тщательно вымыта.
- Неполная промывка негативно влияет на точность результатов. Полностью удаляйте Промывочный буфер из ячеек между

циклами промывки. Не позволяйте ячейкам высыхать между шагами анализа.

- Использование радиоиммунотерапии значительно увеличило число пациентов с человеческими антителами IgG (НАМА). НАМА могут интерферировать в анализе, использующем мышинные моноклональные антитела, приводя к ложно положительным и ложно отрицательным результатам. Образцы сыворотки, содержащие антитела к мышинным иммуноглобулинам, могут быть проанализированы в случае, когда мышинные иммуноглобулины (сыворотка, асцитная жидкость или моноклональные антитела другой специфичности) добавляются к Разбавителю образцов.

## 13. РАБОЧИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

### 13.1 Чувствительность

Минимально определяемая концентрация IL-22, определенная как концентрация аналита, дающая ОП значительно выше чем буфер для разведения (среднее плюс 2 стандартных отклонения), составила 5.0 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 8 образцов сывороток, содержащих различные концентрации IL-22. В каждый планшет были включены по две стандартные кривые. В таблице приведены средние значения IL-22 и коэффициент вариации для каждого образца. Коэффициент вариации составил в среднем 6.7 %.

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

Образец	Эксперимент	Концентрация IL-22, пг/мл	Коефф. Вариации (%)
1	1	3305	6.4
	2	3256	5.9
	3	3289	4.9
2	1	3495	4.6
	2	3312	3.2
	3	3282	3.8
3	1	755	12.0
	2	726	9.6
	3	730	11.6
4	1	847	4.9
	2	740	4.0
	3	817	3.9
5	1	344	6.4
	2	319	11.7
	3	335	11.1
6	1	468	5.6
	2	411	4.7
	3	405	3.6
7	1	130	7.6
	2	116	8.4
	3	118	7.9
8	1	174	5.7
	2	159	5.0
	3	160	7.2

#### 13.2.2 Воспроизводимость между сериями

Воспроизводимость между сериями в одной лаборатории определялась в 3-х независимых сериях анализа. В каждой серии анализа было выполнено по 6 определений каждого из 8 образцов сыворотки, содержащих различные концентрации IL-22. В каждый планшет были включены по две стандартные кривые. В таблице приведены средние значения IL-22 и коэффициент вариации для каждого образца, рассчитанный из 18 определений каждого образца. Коэффициент вариации составил в среднем 4.5 %.

Таблица 4: Среднее значение концентрации и коэффициент вариации каждого образца

Образец	Среднее значение концентрации, пг/мл	Коэффициент вариации, %
1	3283.52	0.8
2	3363.02	3.4
3	737.20	2.2
4	801.33	6.9
5	332.59	3.7
6	428.12	8.1
7	121.45	6.1
8	164.38	5.1

### 13.3 Восстановление

Извлечение оценивали, тестируя образцы человеческой сыворотки, плазмы (ЭДТК, цитратной, гепариновой) и супернатанта культуры клеток, обогащенные 3 различными уровнями IL-22 человека. Извлечение определяли в 3 независимых экспериментах в 4 образцах сывороток. Количество эндогенного человеческого IL-22 в обогащенной сыворотке вычитали из значений необогащенных образцов. Результаты представлены в таблице 5.

Образец	Среднее восстановление, %
Сыворотка	92
Плазма (ЭДТК)	60
Плазма (цитратная)	72
Плазма (гепариновая)	124
Супернатант культуры клеток	123

### 13.4. Линейность

Образцы сыворотки, плазмы и супернатанта клеточной культуры с различными уровнями человеческого IL-22 были проанализированы в 2 последовательных разведениях с 4 повторами каждый. Данные представлены в табл. 6.

Образец	Восстановление от ожидаемого, %
Сыворотка	107
Плазма (ЭДТК)	105
Плазма (цитратная)	93
Плазма (гепариновая)	76
Супернатант культуры клеток	83

Таблица 7 показывает подробные данные о восстановлении 2 образцов сыворотки (1, 2) и 2 образцов цитратной плазмы (3, 4).

Таблица 7

Образец	Разведение	Концентрация IL-22, пг/мл		
		Ожидаемое значение	Наблюдаемое значение	% извлечения
1	1:2		2923	
	1:4	1461	1342	92
	1:8	731	663	91
	1:16	365	358	98
2	1:2		2883	
	1:4	1442	1380	96
	1:8	721	649	90
	1:16	360	343	95
3	1:2		1269	
	1:4	634	558	88
	1:8	317	274	86
	1:16	159	151	95
4	1:2		1367	
	1:4	684	571	84
	1:8	342	270	79
	1:16	171	129	76

### 13.5 Стабильность образцов

#### 13.5.1 Стабильность при замораживании-размораживании

Аликвоты сыворотки (без добавленного IL-22 и с добавлением IL-22) хранились при температуре  $-20^{\circ}\text{C}$  и размораживались 3 раза, после чего определялись уровни IL-22. Не наблюдалось значительных потерь иммунореактивности IL-22.

#### 13.5.2 Стабильность при хранении

Аликвоты сыворотки (без добавленного IL-22 и с добавлением IL-22) 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-22. Не наблюдалось значительных потерь иммунореактивности IL-22 при хранении при вышеуказанных условиях.

### 13.6 Специфичность

Интерференция циркулирующих факторов иммунной системы оценивалась путем насыщения этих белков в физиологически значимых концентрациях в человеческую IL-22 положительную сыворотку.

Перекрестной реактивности не наблюдалось.

### 13.7 Ожидаемые значения

Панель из 40 образцов сыворотки и плазмы (ЭДТК, цитратной, гепариновой) случайно выбранных практически здоровых людей (мужчин и женщин) была протестирована на содержание IL-22. Обнаруженные уровни человеческого IL-22 представлены в табл. 8.

Sample Matrix	Number of Samples Evaluated	Range (pg/ml)	Mean of Detectable (pg/ml)
Serum	40	nd *- 45	3.4
Plasma (EDTA)	40	nd *- 147	21.0
Plasma (Citrate)	40	nd *- 115	12.0
Plasma (Heparin)	40	nd *- 90	9.0

15. ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ (КРАТКОЕ ИЗЛОЖЕНИЕ) (См. оригинал инструкции).

16. ПРОТОКОЛ ТЕСТА (КРАТКОЕ ИЗЛОЖЕНИЕ) (См. оригинал 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)