

НАБІР ІФА ДЛЯ КІЛЬКІСНОГО ВИЗНАЧЕННЯ TRAIL ЛЮДИНИ

BMS2004/ BMS2004TEN, Human TRAIL Platinum ELISA

Кат. № : **BMS2004/BMS2004TEN** Методика від **11-11-2015**
Кількість : **96, 10x96** Версія **26**
Виробник : **eBioscience, (Австрія)**



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

Тільки для дослідницьких цілей
Не для використання в діагностичних або терапевтичних процедурах

1 Призначення використання

Набір Human TRAIL Platinum ELISA призначений для кількісного визначення TNF-залежного ліганду, що індукує апоптоз людини (TRAIL). Набір призначений тільки для дослідницьких цілей і не повинен використовуватися в діагностиці або терапевтичних цілях.

2 Резюме

TRAIL (TNF-залежний ліганд, що індукує апоптоз людини) виявився членом сім'ї TNF, який є посередником у загибелі клітин у широкому колі злоякісних клітинних ліній і первинних пухлинних клітин. TRAIL індукує два різні сигнали: загибель клітин, активована каспазами та індукція гена, активована NF карра В.

TRAIL цитотоксичного ліганду взаємодіє з п'ятьма рецепторами, лише два з яких (TRAIL-R1 та R2) мають домен смерті.

TRAIL, що є повсюдно вираженим, демонструє дуже складну сигналізацію та пухлино-селективну індукцію апоптозу.

TRAIL бере участь у лімфатичних пухлинних розладах та захворюваннях шлункової залози, а також при лікуванні раку, такого як меланома.

За оновленими даними зверніться до www.eBioscience.com

3 Принцип аналізу

Антитіла анти-TRAIL людини нанесені в лунки планшета.

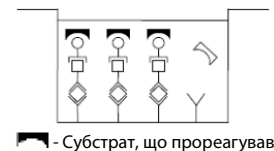
TRAIL людини в зразку або стандарті зв'язується з антитілами в лунках планшета. Біотинильовані антитіла анти-TRAIL людини додаються та зв'язуються з TRAIL людини, захопленими першим антитілом.

Після інкубації з лунок промиванням видаляється незв'язаний біотиновий кон'югат анти-TRAIL людини, і в лунки додається HRP-Стрептавідин, що реагує з біотин-кон'югованим антитілом анти-TRAIL людини.

Після інкубації незв'язаний Стрептавідин-HRP видаляють під час стадії промивання і в лунки додається розчин субстрату, який вступає в реакцію з HRP.



Кольоровий продукт утворюється пропорційно до кількості TRAIL людини, присутнього у зразку чи стандарті. Реакція припиняється додаванням кислоти, і поглинання вимірюється при 450 нм. Стандартну криву будують по 7 стандартних розведеннях TRAIL та визначається концентрація зразка TRAIL людини.



4 Реагенти, що постачаються з набором

4.1 Реагенти в наборі Human TRAIL ELISA BMS2004 (96 тестів)

1 планшет **Мікропланшет**, покритий моноклональними антитілами до TRAIL людини

1 флакон **Кон'югат** моноклональних анти-TRAIL антитіл і **біотину**, 70 мкл

1 флакон **Кон'югат стрептавідину з пероксидазою хрому**, 150 мкл

2 флакони **Стандарт**, ліофілізований, 2 нг/мл після відновлення

1 пляшка **Промивний Буфер, концентрат** 20x (PBS з 1% Tween 20), 50 мл

1 флакон **Субстратний розчин** (ТМБ), 15 мл

1 флакон **Стоп-розчин** (1М фосфорна кислота), 15 мл

4 **Плівка для заклеювання смужок**

4.2 Реагенти в наборі Human TRAIL ELISA BMS2004TEN (10 x 96 тестів)

10 планшетів **Мікропланшет**, покритий моноклональними антитілами до людського TRAIL

10 флаконів **Кон'югат** моноклональних анти-TRAIL антитіл і **біотину**, 70 мкл

10 флаконів **Кон'югат стрептавідину з пероксидазою хрому**, 150 мкл

10 флаконів **Стандарт**, ліофілізований, 2 нг/мл після відновлення

4 пляшки **Промивний Буфер, концентрат** 20x (PBS з 1% Tween 20), 50 мл

10 флаконів **Субстратний розчин** (ТМБ), 15 мл

1 флакон **Стоп-розчин** (1М фосфорна кислота), 15 мл

20 **Плівка для заклеювання смужок**

5 Інструкції зі зберігання - набір ІФА

Зберігайте компоненти набору при температурі 2-8 °С. Відразу після використання поверніть реагенти в холодильник. Зберігайте до дати, зазначеної на упаковці реагентів.

Тільки при відповідному зберіганні і виключенні контамінації під час попереднього використання набору гарантується якісна робота реагентів.

6 Забір і зберігання зразка

Супернатант культур клітин, сироватка і плазма (ЕДТА, цитратна, гепаринова) можуть бути використані для аналізу даним методом. Інші біологічні зразки також можуть бути використані. Відділити сироватку або плазму від згустку або еритроцитів якомога швидше.

Зразки, що містять видимий преципітат, необхідно центрифугувати для відділення преципітату до аналізу. Не використовуйте сильно гемолізовані або ліпемічні зразки.

Зразки необхідно аліквотувати, заморозити і зберігати при температурі -20 °С або нижче, щоб запобігти втраті біоактивності TRAIL. Якщо аналіз буде виконаний в найближчі 24 години, зразки можуть зберігатися при 2-8 °С (щодо стабільності зразка дивись розділ 13.5).

Запобігати повторним циклом заморожування-розморожування зразків. Перед аналізом заморожений зразок слід довести до кімнатної температури і обережно перемішати.

7 Необхідні матеріали, які не постачаються з набором

- Калібровані піпетки на 5 мл і 10 мл
- Калібровані піпетки одноканальні змінного об'єму з одноразовими наконечниками на 5-1000 мкл
- Багатоканальні піпетки з одноразовими наконечниками на 50-300 мкл
- Ванна для реагентів для використання з багатоканальною піпеткою
- Калібровані склянки, колби, циліндри, необхідні для приготування реактивів
- Ручний або автоматичний промивний пристрій
- Мікропланшетний рідер з фільтром на 450 нм і, по можливості, фільтр порівняння ≥ 620 нм
- Дистильована або деіонізована вода
- Міліметровий папір або програмне забезпечення для обробки результатів (лінійна регресія)

8 Застереження щодо використання

- Всі хімікати вважати потенційно небезпечними. Рекоменується використання даних реагентів тільки кваліфікованим персоналом в лабораторних умовах. Використовувати захисний одяг, окуляри і рукавички. Уникати контакту з очима та шкірою. У разі контакту, промити з великою кількістю води.
- Набір призначений тільки для дослідницьких цілей і не повинен використовуватися в рутинних діагностичних процедурах.
- Не змішуйте різні лоти і реагенти з різних лотів.
- Не використовуйте реагенти з простроченим терміном зберігання.
- Уникайте опромінення реагентів сильним джерелом світла під час зберігання і інкубації.
- Не піпетувати ротом.
- Не можна їсти або курити в місці, де зберігаються реагенти і зразки або в місці, де проводиться аналіз.
- Уникайте контакту реагентів зі шкірою та слизовими.
- При ручному методі аналізу користуйтеся латексними рукавичками для захисту рук.
- Уникайте контакту субстратного розчину з металами і окислювачами.
- Уникайте розбризкування і накопичення аерозолів.
- Щоб уникнути мікробного забруднення або забруднення реактивами і отримання в результаті недостовірних результатів, користуйтеся одноразовими наконечниками.
- Використовуйте чистий, спеціально виділений посуд для кон'югатів і субстратного розчину.
- Забруднення кислотою інактивує кон'югат.
- Для приготування реактивів використовуйте дистильовану або деіонізовану воду.
- Субстратний розчин повинен мати кімнатну температуру перед використанням
- Знезаражуйте після роботи зразки, так як вони можуть бути інфіковані, переважно в автоклаві не менше 1 години при 121.5 °С.
- Рідкі відходи, що не містять кислоту, і нейтралізовані необхідно змішати з розчином гіпохлориту натрію таким чином, щоб вийшов в результаті 1% розчин гіпохлориту. Залиште отриману суміш на 30 хвилин для ефективного знезараження. Рідкі відходи, що містять кислоту, необхідно нейтралізувати до знезараження розчином гіпохлориту натрію.

9 Підготовка реагентів

Буферні концентрати привести до кімнатної температури і розвести перед початком аналізу.

Якщо в **буферних концентратах** утворилися кристали, акуратно підігріти їх до повного розчинення.

9.1 Розчин для промивання (1x)

Розбавте 50 мл **концентрату** дистильованою або деіонізованою водою в мірному циліндрі до кінцевого обсягу 1,0 л. Перемішайте, уникаючи спінювання.

Зберігайте промивний розчин при 2-25 °С. Промивний розчин стабільний протягом 30 днів.

Промивний розчин (1x) також може бути приготований згідно наступної таблиці:

Кількість смужок	Концентрат Промивного Буфера (20x), мл	Дистильована вода (мл)
1-6	25	475
1-12	50	950

9.2 Біотиновий Кон'югат

Зауважте, що Біотиновий Кон'югат повинен бути використаний протягом 30 хвилин після розведення.

Приготуйте 1:100 розведення концентрованого розчину Біотинового кон'югату з буфером для аналізу (1x) в чистій пластиковій пробірці в міру необхідності у відповідності з наступною таблицею:

Кількість смужок	Біотиновий кон'югат, мл	Робочий буфер (1x) (мл)
1-6	0.03	2.97
1-12	0.06	5.94

9.3 Стрептавідин-HRP

Зауважте, що Стрептавідин-HRP повинен бути використаний протягом 30 хвилин після розведення.

Приготуйте 1:100 розведення концентрованого розчину стрептавідин-HRP з буфером для аналізу (1x) в чистій пластиковій пробірці в міру необхідності у відповідності з наступною таблицею:

Кількість смужок	Стрептавідин-HRP, мл	Робочий буфер (1x) (мл)
1-6	0.06	5.94
1-12	0.12	11.88

9.4 Стандарт TRAIL людини

Розчиніть **Стандарт TRAIL людини** в дистильованій воді. Необхідний обсяг для розчинення вказано на етикетці флакона, що містить стандарт. Обережно перемішуйте до повного розчинення. Кінцева концентрація отриманого розчину складе 2 нг/мл. Залишити стандарт для відновлення на 10-30 хвилин. Ретельно перемішати перед розведенням.

Після використання стандарт, що залишився, не може зберігатися і повинен бути знищений.

Розведення стандарту можуть проводитися безпосередньо на планшетах (див. Пункт 10c) або альтернативно в пробірках (див. Пункт 9.4.1)

9.4.1 Зовнішнє розведення Стандарту

Помітити 7 пробірок, одну для кожної точки стандарту. S1, S2, S3, S4, S5, S6, S7.

Потім підготувати серійні розведення 1:2 для стандартної кривої як зазначено нижче:

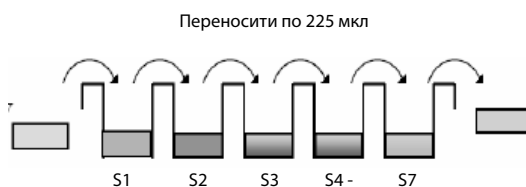
Піпетувати 225 мкл Робочого Буфера в кожну пробірку.

Піпетувати 225 мкл відновленого стандарту (концентрація стандарту = 2 нг/мл) в першу пробірку, позначену S1, і перемішати (концентрація стандарту 1 = 1 нг/мл).

Піпетувати 225 мкл цього розчину в другу пробірку, позначену S2, і ретельно перемішати перед наступним переміщенням.

Повторити серійні розведення ще 5 разів, таким чином формуючи точки стандартної кривої (Див. Малюнок нижче).

Розчинник зразків служить в якості бланка.



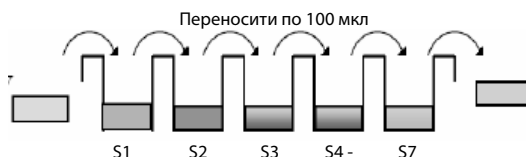
Відновлений Стандарт TRAIL людини

Розчинник зразків 225 мкл

Видалити 225 мкл

10 Протокол аналізу

- Визначити кількість мікролунок стрипів, необхідних для перевірки необхідної кількості зразків плюс відповідну кількість лунок, необхідних для бланків і стандартів. Кожен зразок, стандарт, бланк і додаткові контрольні зразки повинні бути проаналізовані в двох примірниках. Видаліть зайві мікрострипи з тримача і зберігайте їх у пакеті з фольги з осушувачем при 2-8 °С щільно закритими.
- Промийте лунки 2 рази з 400 мкл **Промивного Буфера** на лунку, повністю видаляючи рідину між промивками. Залишити на **10-15 секунд**. Уникайте подряпин на поверхні лунок. Переверніть планшет на фільтрувальний папір після останньої промивки. Використовуйте стрипи негайно після струшування або максимум через 15 хвилин за умови, що стрипи покладені на вологий фільтрувальний папір в перевернутому вигляді. **Не дозволяйте лункам висихати!**
- Розведення стандарту на планшетах** (Альтернативно розведення стандарту може бути приготовлено в пробірках - див. 9.4.1): Додати 100 мкл Розчинника для зразків в дублях до **всіх стандартів**. Приготуйте стандартні розведення додаванням по 100 мкл розведеного **Стандарту** (розділ «Приготування реагентів» 9.4, концентрація = 2000.0 пг/мл) в дублях в лунки A1 і A2 (Див. Табл. 1). Перемішайте вміст лунок A1 і A2 повторною аспірацією та виприсканням (концентрація стандарту 1 S1=1000.0 пг/мл) і перенесіть по 100 мкл розчину з лунок A1 і A2 в лунки B1 і B2 відповідно. Під час цих маніпуляцій постарайтеся не подряпати внутрішню поверхню лунок. Повторіть перенесення і розведення стандартів 5 разів, отримавши в підсумку 2 ряди розведень Стандарту TRAIL в діапазоні від 1000.0 до 15.6 пг/мл. Видаліть 100 мкл рідини з останніх лунок (G1, G2).



Відновлений Стандарт TRAIL людини

Розчинник зразків 100 мкл

Видалити 100 мкл

При **зовнішньому розведенні стандарту** піпетувати 100 мкл цих розведень стандартів (S1-S7) в лунки для стандартів згідно з таблицею 1.

Таблиця 1: Схема розташування зразків, бланка і стандартів на планшеті.

	1	2	3	4
A	Стандарт 1 (1000.0 пг/мл)	Стандарт 1 (1000.0 пг/мл)	Зразок 1	Зразок 1
B	Стандарт 2 (500.0 пг/мл)	Стандарт 2 (500.0 пг/мл)	Зразок 2	Зразок 2
C	Стандарт 3 (250.0 пг/мл)	Стандарт 3 (250.0 пг/мл)	Зразок 3	Зразок 3
D	Стандарт 4 (125.0 пг/мл)	Стандарт 4 (125.0 пг/мл)	Зразок 4	Зразок 4
E	Стандарт 5 (62.5 пг/мл)	Стандарт 5 (62.5 пг/мл)	Зразок 5	Зразок 5
F	Стандарт 6 (31.3 пг/мл)	Стандарт 6 (31.3 пг/мл)	Зразок 6	Зразок 6
G	Стандарт 7 (15.6 пг/мл)	Стандарт 7 (15.6 пг/мл)	Зразок 7	Зразок 7
H	Бланк	Бланк	Зразок 8	Зразок 8

- Внесіть по 100 мкл **Розчинника для зразків** в дублікаті в лунки «Бланк».
- Внесіть по 50 мкл **Розчинника для зразків** в лунки, призначені для зразків.
- Внесіть по 50 мкл кожного зразка в дублях в лунки для зразків.
- Приготуйте **Біотиновий кон'югат** (розділ 9.2 «Приготування реагентів»).
- Додайте по 50 мкл **Біотинового кон'югату** в усі лунки.
- Закрийте планшет плівкою і інкубуйте 2 години при кімнатній температурі (18-25 °C), якщо можливо, використовуйте орбітальний струшувач, встановлений на 400 об/хв.
- Підготуйте **Стрептавідин-HRP** (див. Розділ 9.3 Підготовка Стрептавідин-HRP).
- Зніміть плівку. Повністю видаліть вміст лунок. **Промийте** лунки 6 рази як зазначено в кроці «b» цього Протоколу. Переходьте негайно до наступного кроку.
- Внесіть по 100 мкл розведеного **Стрептавідин-HRP** в усі лунки, включаючи бланк.
- Закрийте планшет плівкою і інкубуйте 1 годину при кімнатній температурі (18-25 °C), якщо можливо, використовуйте орбітальний струшувач, встановлений на 400 об/хв.
- Зніміть плівку. Повністю видаліть вміст лунок. Промийте лунки 6 разів як зазначено в кроці «b» цього Протоколу. Переходьте негайно до наступного кроку.
- Внесіть 100 мкл **Розчину Субстрату ТМБ** в усі лунки.
- Інкубуйте при кімнатній температурі протягом приблизно 20 хвилин. Уникайте впливу прямих сонячних променів.

Розвиток кольору на пластині повинен контролюватися і реакція з субстратом повинна бути зупинена (див. наступний пункт цього протоколу), перш ніж позитивні лунки більше не фіксуються належним чином.

Визначення ідеального періоду часу для розвитку забарвлення має бути зроблено індивідуально для кожного аналізу.

Рекомендується додавання стоп-розчину, коли найвищий стандарт досяг темно-синього кольору. Реакція повинна бути зупинена, як тільки Стандарт 1 досяг значення ОЩ 0.9 - 0.95.

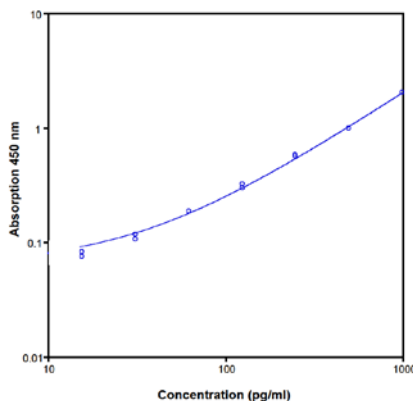
- Додайте по 100 мкл **Стоп-Розчину** в усі лунки, щоб повністю інактивувати фермент в лунках. Важливо вносити стоп-розчин швидко і з тією ж швидкістю, що і субстратний розчин. Оптичну щільність зчитати негайно після внесення стоп-розчину або протягом 1 години за умови, що стрипи перебували весь цей час при температурі 2-8 °C у темряві.
- Визначте оптичну щільність всіх лунок при 450 нм, бажано використовувати довжину хвилі порівняння 620 нм (допустима довжина хвилі порівняння в діапазоні 610-650 нм). Обнулити мікропланшетний рідер згідно керівництва виробника, використовуючи лунку «Бланк». Визначте ОЩ як в лунках, що містять зразки, так і в лунках, що містять стандарти.

Зауваження: якщо інкубація проводилася без струшування, значення можуть бути нижче, ніж в прикладі, наведеному нижче. Проте, ці результати також вважаються достовірними.

11 Розрахунок результатів

- Розрахуйте результати. Для цього розрахуйте середнє значення поглинання для кожного стандарту і зразка. Відхилення від середнього не повинно бути більше 20%.
- Використовуючи графічний папір, відзначте точки середніх значень поглинання стандартів на вертикальну вісь Y, а відповідні концентрації TRAIL на горизонтальну вісь X. Проведіть оптимальну криву по точкам.
- Визначте концентрації TRAIL в зразках зі стандартної кривої. Для цього знайдіть значення на осі ординат (Y), що відповідають середньому значенню отриманої для кожного зразка ОЩ і проведіть горизонтальну лінію до перетину зі стандартною кривою. Потім з точки перетину проведіть вертикальну лінію до перетину з віссю абсцис (X). Значення на осі X в точці перетину і буде відповідати концентрації TRAIL у відповідній пробі.
- У ході аналізу, відповідно до даної інструкції, зразки були розведені 1:2, отже, концентрації, отримані з калібрувальної кривої, повинні бути помножені на коефіцієнт розведення (x2).**
- Розрахунок зразків з оптичною щільністю вище значення Стандарту 1 може бути некоректний - результати будуть занижуватись. Такі зразки необхідно додатково розвести буфером для розведення і протестувати ще раз, для отримання результату, що відображає точну концентрацію TRAIL.**
- Рекомендується, щоб в кожну серію аналізу включався контрольний зразок з відомою концентрацією TRAIL. Якщо значення контролю не вкладаються в очікуваний діапазон, результати аналізу можуть бути недостовірні.
- Некласична стандартної кривої показаний на рисунку нижче. Не використовуйте цю стандартну криву для розрахунку ваших зразків. Стандартна крива повинна бути включена в кожну постановку.

Малюнок. Приклад стандартної кривої для TRAIL. TRAIL був розбавлений в серії дворових послідовних кроків титрування Розчинником для зразків. Тут представлені середні значення з трьох паралельних титрувань. Не використовуйте цю стандартну криву для розрахунку ваших зразків. Стандартна крива повинна бути включена в кожну постановку.



Таблиця: Типові результати, отримані з використанням даного набору. Вимірювання на 450 нм, довжина хвилі порівняння 620 нм.

Стандарт	Концентрація TRAIL, пг/мл	O.D. (450 нм)	O.D., середнє	CV, %
1	1000.0	2.019 2.007	2.013	0.4
2	500.0	0.978 0.976	0.982	0.6
3	250.0	0.557 0.578	0.578	0.1
4	125.0	0.293 0.320	0.307	6.2
5	62.5	0.185 0.186	0.186	0.4
6	31.3	0.116 0.105	0.111	7.0
7	15.6	0.082 0.074	0.078	7.3
Бланк	0	0.049 0.048	0.049	1.0

Значення OD стандартної кривої можуть змінюватися в залежності від умов виконання аналізу (наприклад, температурний режим). Крім того, протягом терміну придатності набору ферментна активність, і, отже, інтенсивність фарбування, можуть змінюватися. При цьому результати тестування залишаються достовірними.

12 Обмеження

- Так як умови можуть змінюватися від аналізу до аналізу, стандартна крива повинна бути включена в кожну серію аналізу.
- Бактеріальне або грибоконе забруднення зразків або реактивів може призвести до недостовірних результатів.
- Використовуйте одноразові наконечники. Скляний посуд повинен бути ретельно вимитий.
- Неповна промивка негативно впливає на точність результатів. Повністю видаляйте Промивний буфер з лунок між циклами промивання. Не дозволяйте лункам висихати між кроками аналізу.
- Використання радіоімунотерапії значно збільшило число пацієнтів з антимишачими IgG людини (НАМА). НАМА можуть інтерферувати в аналізі, що використовує мишачі моноклональні антитіла, приводячи до хибно позитивних і хибно негативних результатів. Зразки сироватки, що містять антитіла до мишачих імуноглобулінів, можуть бути проаналізовані в разі, коли мишачі імуноглобуліни (сироватка, асцитна рідина або моноклональні антитіла іншої специфічності) додаються до розчинників зразків.

13 Робочі характеристики

13.1 Чутливість

Межа виявлення TRAIL визначається, це концентрація аналіту, що дає ОЩ значно вище, ніж буфер для розведення (середнє плюс 2 стандартних відхилення), і вона складає 5 пг/мл (середнє 6 незалежних визначень).

13.2 Відтворюваність

13.2.1 Відтворюваність всередині однієї серії

Відтворюваність всередині однієї серії визначалася в 3 незалежних серіях аналізу. У кожній серії аналізу було виконано по 6 визначень кожного з 8 зразків сироваток, що містять різні концентрації TRAIL. У кожен планшет були включені по дві стандартні криві. У таблиці наведені середні значення TRAIL і коефіцієнт варіації для кожного зразка. Коефіцієнт варіації склав в середньому 6.5%.

Таблиця 3: Середнє значення концентрації і коефіцієнт варіації для кожного зразка

Sample	Experiment	Mean Human TRAIL Concentration (pg/ml)	Coefficient of Variation (%)
1	1	867.0	3
	2	895.8	8
	3	861.8	9
2	1	229.2	8
	2	272.8	4
	3	204.6	5
3	1	156.4	8
	2	179.1	2
	3	133.2	9
4	1	396.1	6
	2	453.5	8
	3	410.9	5
5	1	259.2	6
	2	285.2	2
	3	228.5	4
6	1	677.3	8
	2	736.3	5
	3	625.6	3
7	1	515.8	10
	2	515.2	7
	3	497.2	7
8	1	70.3	8
	2	68.1	12
	3	70.1	10

13.2.2 Відтворюваність між серіями

Відтворюваність між серіями в одній лабораторії визначалася в 3-х незалежних серіях аналізу. У кожній серії аналізу було виконано по 6 визначень кожного з 8 зразків сироватки, що містять різні концентрації TRAIL. У кожен планшет були включені по дві стандартні криві. У таблиці наведені середні значення TRAIL і коефіцієнт варіації для кожного зразка, розрахований з 18 визначень кожного зразка. Коефіцієнт варіації склав в середньому 7.7%.

Таблиця 4: Середнє значення концентрації і коефіцієнт варіації кожного зразка

Зразок	Середнє значення концентрації TRAIL, пг/мл	Коефіцієнт варіації, %
1	874.9	2.1
2	235.5	14.7
3	156.2	14.7
4	420.2	7.1
5	257.6	11.0
6	679.7	8.2
7	509.4	2.1
8	69.5	1.7

13.3 Відновлення після вприскування

Відновлення після вприскування оцінювали тестуючи зразки людської сироватки, збагачені 4 різними рівнями TRAIL людини. Відновлення визначали в трьох незалежних експериментах в 6 зразках сироваток. Кількість ендogenous TRAIL в не насиченій сироватці використовували як бланк в даних експериментах. Загальне середнє відновлення становить 77%.

13.4 Лінійність розведення

3 зразки людської сироватки, з різними рівнями TRAIL, були проаналізовані в 2 серіях дворазових розведень, по 4 повтори кожен. Відновлення становить в середньому 103%, в діапазоні від 94% до 120%.

Таблиця 5

Sample	Dilution	Expected Human TRAIL Concentration (pg/ml)	Observed Human TRAIL Concentration (pg/ml)	Recovery of Expected Human TRAIL Concentration (%)
1	1:2	--	815.5	--
	1:4	407.8	404.6	99.2 %
	1:8	203.9	210.3	103.2 %
	1:16	101.9	117.5	115.2 %
2	1:2	--	478.5	--
	1:4	239.3	225.0	94.0 %
	1:8	119.6	112.5	94.0 %
	1:16	59.8	71.5	119.5 %
3	1:2	--	195.3	--
	1:4	97.6	93.8	96.1 %
	1:8	48.8	50.5	103.4 %
	1:16	24.4	24.5	100.5 %

13.5 Стабільність зразків

13.5.1 Стабільність при заморожуванні-розморожуванні

Аліквоти сироватки зберігалися при температурі -20 °C і розморожувалися 5 разів, після чого визначалися рівні TRAIL. Не спостерігалося значних втрат імунореактивності TRAIL.

13.5.2 Стабільність при зберіганні

Аліквоти сироватки зберігалися при температурі -20 °C, 2-8 °C, кімнатній температурі і при 37 °C протягом 24 годин, після чого визначалися рівні TRAIL. Не спостерігалося значних втрат імунореактивності TRAIL при зберіганні при вищезазначених умовах.

13.6 Специфічність

Інтерференцію циркулюючих факторів імунної системи оцінювали введенням цих білків в фізіологічно значимих концентраціях в людську TRAIL позитивну сироватку.

Перехресну реактивність не спостерігали ні для одного з досліджених білків.

13.7 Очікувані значення

Панель з 40 сироваток, а також ЕДТА, цитратної і гепаринової плазми з випадково вибраних здорових донорів (чоловіки і жінки) була випробувана на людський TRAIL. Виміряні рівні можуть змінюватися в залежності від використовуваного відбору проб. Для виявлених рівнів людського TRAIL див. Таблицю 6.

Sample Matrix	Number of Samples Evaluated	Range (pg/ml)	Mean (pg/ml)	Standard Deviation (pg/ml)
Serum	40	6.6 - 126.7	51.6	31.1
Plasma (EDTA)	40	6.3 - 158.0	54.5	36.4
Plasma (Citrate)	40	7.4 - 84.1	25.9	18.3
Plasma (Heparin)	40	14.2 - 238.2	65.1	47.2

15. Підготовка реагентів (короткий виклад)

(Див. Оригінал інструкції).

16. Протокол аналізу (короткий виклад)

(Див. Оригінал інструкції).



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