

Інструкція із застосування

Періостин ІФА

Імуноферментний аналіз для кількісного визначення періостину людини в сироватці/плазмі, супернатантах клітинних культур, рідині для промивання носа, склоподібному тілі, слюзах та рідині для бронхоальвеолярного лаважу (БАЛР).

REF 30151132

 **8x12**

Лише для ілюстрації.

Для проведення аналізу необхідно використовувати інструкцію із застосування, що додається до набору.

Уповноважений представник: ТОВ «АЙ ВІ СЕТ», 01010, м. Київ, вул. Омеляновича-Павленка, буд. 19 А, оф. 1, тел. (044) 223-83-18, info@ivset.ua www.ivset.ua

Розповсюджувач: IBL International GmbH

Флугафенштрассе, 52а
22335 Гамбург, Німеччина

Телефон: +49 (0)40-53 28 91-0 IBL@tecan.com
Факс: +49 (0)40-53 28 91-11 www.tecan.com/ibl

ГІЛЬКИ ДЛЯ ДОСЛІДНИЦЬКОГО

Набір для ІФА періостину (для людей)

Перед використанням прочитайте цей вкладиш.

1. ВСТУП Періостин, також відомий як остеобласт-специфічний фактор 2 (OSF-2), — це білок позаклітинного матриксу з масою приблизно 90 кДа, що належить до родини фасцилінів.1)Білок періостину складається з області, багатой на цистеїн (EMI), та області з чотириспиральними фасциліноподібними повторами (FAS1). Було виявлено, що колаген I типу та фібронектин зв'язуються з доменом EMI, а тенасцин-C — з доменом FAS1.2)Періостин регулюється посилено стимуляцією цитокінами Th2 (IL-4, IL-13).3)Рівень періостину корелює як із Th2-запаленням, так і з фіброзом. 4)Концентрація періостину в біологічних зразках підвищується при багатьох захворюваннях, включаючи atopічний дерматит, астму, склеродермію, холангіоцелюлярну карциному та діабетичну ретинопатію.5-9)Також було висловлено припущення, що періостин може служити супутнім діагностичним маркером для терапії астми.10). Цей набір ІФА спеціально вимірює природний та рекомбінантний людський періостин. Він не реагує ні з βіg-h3, ні з періостином миші.

2. ПРИЗНАЧЕННЯ

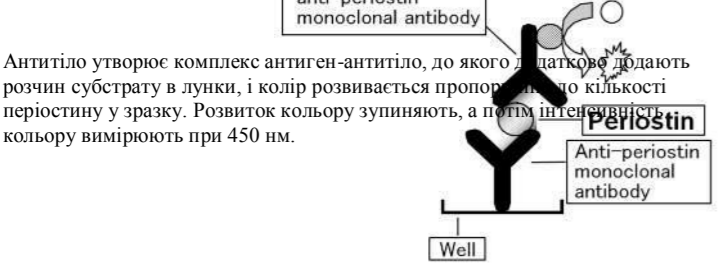
Цей набір призначений для кількісного визначення періостину людини в сироватці/плазмі, супернатантах клітинних культур, рідині для промивання носа, склоподібному тілі, сльозах та рідині для бронхоальвеолярного лаважу (БАЛР). Він налаштований лише для дослідницького використання та не призначений для діагностичного чи терапевтичного застосування.

3. КОМПОНЕНТИ НАБОРУ

Пакет	96 тестівX 1	
Код продукту	326070442	
①Планшет, покритий, покрити антитілами Моноклональне антитіло проти періостину	8 лунок	12 стріпів
②POD кон'югат (ліофілізований) Моноклональний антиперіостиновий антитіл, пов'язаний з пероксидазою антитіло	Для 12 мл	1 флакон
③Стандарт (ліофілізований) Рекомбінантний людський періостин	Для 1,0 мл	1 флакон
④Позитивний контроль (ліофілізований) Періостин людської сироватки	Для 1,0 мл	1 флакон
⑤Розріджувач зразка	100 мл	1 флакон
⑥Розчинник кон'югату	12 мл	1 флакон
⑦Кольоровий реагент А 3, 3', 5, 5'-тетраметилбензидин	6 мл	1 флакон
⑧Кольоровий реагент В перекис водню	6 мл	1 флакон
⑨Стоп розчин	12 мл	1 флакон
⑩5X Концентрат для промивання	100 мл	2 флакони
⑪Пластинове ущільнення		2 аркуші

4. ПРИНЦИП АНАЛІЗУ

Аналіз використовує 2-етапний сендвіч-імуноферментний аналіз (ІФА). Лунки мікротитровальних стріпів попередньо покривають моноклональним антитілом, специфічним до періостину. Зразки додають до лунк. Періостин у зразках специфічно зв'язується з іммобілізованим антитілом. Додавання моноклонального антитіла, пов'язаного з POD, проти періостину.



Антитіло утворює комплекс антиген-антитіло, до якого додатково додають розчин субстрату в лунки, і колір розвивається пропорційно до кількості періостину у зразку. Розвиток кольору зупиняють, а потім інтенсивність кольору вимірюють при 450 нм.

5. ПРОЦЕДУРА

5-1. НЕОБХІДНІ МАТЕРІАЛИ, ЯКІ НЕ ВХОДЯТЬ ДО НАБОРУ

Мікропіпетки та наконечники (10, 100, 1000 мкл)
Пластикові пробірки (для приготування стандартів та зразків)
Мірний циліндр об'ємом 1 л (для приготування промивного розчину)
Вихровий змішувач
Кришка для тарілки або поліетиленова плівка
Інкубатор при 25 °С
Промивач мікропланшетів
96-лунковий планшетний рідер, здатний вимірювати при 450 нм

5-2. ПІДГОТОВКА РЕАГЕНТІВ

Планшет, покритий антитілами Готовий до використання. Замініть невикористані стріпи в алюмінієвому конверті на осушувач та зберігайте при температурі 2-8 °С.

Розріджувач зразка Готовий до використання.

Стандарт Розведіть стандарт за допомогою 1,0 мл розчинника для розведення зразка. Обережно перемішайте та дайте постояти 10 хвилин для повного розведення. Підготуйте серію розведень стандарту, використовуючи розчинник для розведення зразка та пластикові пробірки (див. Таблицю 1). Розведений та нерозведений стандарт можна зберігати в пластикових пробірках аликвотами та залишатиметься стабільним протягом 1 місяця за температури нижче -30 °С. Уникайте повторних циклів заморожування-розморожування. Створіть серію розведень стандарту для кожного аналізу.

Позитивний контроль Розведіть позитивний контроль за допомогою 1,0 мл розчинника для розведення зразка. Дивіться інструкції на етикетці флакона. Обережно перемішайте та дайте постояти 10 хвилин для повного відновлення. Діапазон концентрацій позитивного контролю вказаний на етикетці флакона. Розведений позитивний контроль можна зберігати в пластикових пробірках аликвотами та залишатися стабільним протягом 1 місяця за температури нижче -30 °С. Уникайте повторних циклів заморожування-розморожування.

Розчин POD-кон'югату Розведіть POD-кон'югат усім об'ємом розчинника для кон'югату. Обережно перемішайте та дайте постояти 10 хвилин для повного відновлення. Розведений розчин POD-кон'югату можна зберігати у пластикових пробірках, покритих алюмінієвою фольгою, у вигляді аликвот, і він залишатиметься стабільним протягом 1 місяця за температури нижче -30 °С. Уникайте повторних циклів заморожування-розморожування.

Розчин субстрату Безпосередньо перед використанням змішайте в пробіріці рівні об'єми кольорових реагентів А та В, які попередньо довели до кімнатної температури.перед використанням

Стоп розчин Готовий до використання.

Розчин для промивання Розведіть 5-кратний концентрат для миття чотирма об'ємами дистильованої води.

Метод розведення	Концентрація (нг/мл)
S1Розведіть стандарт розчинником для зразка, щоб отримати концентрацію 2 нг/мл розведений стандарт відповідно до концентрації періостину Етикетка флакона. (Загальний об'єм: 1 мл)	2.000
S2Додайте 500 л S1 до 500 л розчинника зразка та перемішайте.	1.000
S3Додайте 500 л S2 до 500 л розчинника для розведення зразків та перемішайте.	0,500
S4Додайте 500 л S3 до 500 л розчинника для розведення зразків та перемішайте.	0,250
S5Додайте 500 л S4 до 500 л розчинника для розведення зразків та перемішайте.	0,125
S6Розчинник зразка.	0

5-3. ПІДГОТОВКА ЗРАЗКА

Зразки слід розводити розчинником для зразків за допомогою пластикових пробірок. Наприклад, щоб приготувати зразок сироватки, розведений у 201 разів, додайте 5,0 мкл сироватки до 1,0 мл розчинника для зразків. Періостин людини можна вимірювати в сироватці крові, плазмі, супернатантах клітинних культур, рідині для промивання носа, склоподібному тілі, сльозах та БАЛФ. Аліквоти зразків у пластикових пробірках можна зберігати при температурі -80 °С. Уникайте повторних циклів заморожування-розморожування. Якщо зразки містять періостин, що перевищує найвищий стандарт, розведіть його розчинником для розчинення зразків у пластикових пробірках та повторно виміряйте.

5.4.ПРОЦЕДУРНІ НОТАТКИ

- Кожен реагент слід нагріти до кімнатної температури щонайменше за 30 хвилин перед використанням.
- Хоча кристали можуть утворюватися в лунках мікротитровального планшета, вони не впливають на характеристики виконання аналізу. Немає потреби промивати лунки перед використанням.
- Для кожного аналізу необхідно побудувати стандартну криву.
- Використовуйте пластикові пробірки для розведення стандартів та зразків.

5-5. ПРОЦЕДУРА ДОСЛІДЖЕННЯ

Додайте по 100 мкл розведених стандартів, позитивного контролю та розведених зразків у лунки. Щільно закрийте всі лунки плівкою Plate Seal та інкубуйте протягом 18-24 годин при температурі 25 °С. Будьте обережні, щоб не розлити рідину з лунок.

Промийте лунки 5 разів промивним розчином (>400 л/лунка) за допомогою автоматичної або ручної промивної машини для мікропланшетів. Після останнього промивання переверніть планшет і постукайте 4 або 5 разів об паперовий рушник без ворсу, щоб видалити залишки промивного буфера. Додайте 100 мкл розчину POD-кон'югату в кожную лунку. Щільно закрийте всі лунки плівкою Plate Seal та інкубуйте протягом 90 хвилин при температурі 25 °С. Повторіть процедуру прання, як у кроці 3. Очистіть задню частину лунок. Будьте обережні, щоб не подрпати їх, оскільки це може перешкодити вимірюванням.

Додавайте по 100 мкл розчину субстрату в кожную лунку через рівні проміжки часу. Інкубуйте протягом 10 хвилин за кімнатної температури. Під час реакції накрийте планшет кришкою або поліетиленовою плівкою, щоб уникнути забруднення. Додайте 100 мкл стоп-розчину до кожної лунки в однаковій послідовності та з однаковими інтервалами часу.

Зчитайте поглинання кожної лунки при 450 нм за допомогою планшетного рідера протягом 60 хвилин після додавання субстрату. Якщо доступна корекція довжини хвилі, встановіть значення між 550 та 700 нм. Зчитайте концентрації періостину в невідомих зразках зі стандартної кривої (див. рис. 1). Якщо зразки були розведені, коєфіцієнт розведення, необхідний помножити на коефіцієнт розведення.

5-6. РЕЗЮМЕ АНАЛІЗУ

Підготуйте розведені стандарти, позитивний контроль та розведені зразки. Додайте по 100 мкл зразків у кожную лунку
Інкубувати протягом 18-24 годин при температурі 25 °С
Промийте лунки 5 разів.
Додати 100 мкл розчину POD-кон'югату
Інкубувати протягом 90 хвилин при температурі 25 °С
Промийте лунки 5 разів.
Додати 100 л розчину субстрату
Інкубувати протягом 10 хвилин при кімнатній температурі
Додати 100 л стоп-розчину
Зчитайте поглинання при 450 нм (основна довжина хвилі) 550-700 нм (вторинна довжина хвилі)

6. ПРОВЕДЕННЯ ТЕСТІВ

Динамічний діапазон	від 0,0 до 2,0 нг/мл
Межа виявлення	20 пг/мл
Специфічність	Відсутність перехресної реакції з βіg-h3 Відсутня перехресна реакція з періостином мишей, великої рогатої худоби та собак.

Відтворюваність	Коефіцієнт варіації в аналізі < 10% Між аналізами коефіцієнт варіації < 10%
Відновлення	від 80 до 120%

7.ЗБЕРІГАННЯ

Термін придатності вказано на упаковці. Зберігати при температурі 2-8 °С. Не заморожувати

8. ПРИМІТКИ.

- Цей набір призначений лише для дослідницького використання.
- Не використовуйте для діагностичних або терапевтичних цілей. Не заморожуйте набір. Після заморожування його необхідно утилізувати
- Перед використанням прочитайте вкладиш до упаковки та найновіший паспорт безпеки продукту (SDS).
- Не змішуйте компоненти з іншої партії. Не використовуйте прострочені набори.
- Кожен реагент слід довести до кімнатної температури щонайменше на 30 хвилин перед використанням.
- Суворо дотримуйтеся методів приготування реагенту та зразка. Як описано в розділі 5-2. «ПІДГОТОВКА РЕАГЕНТІВ», зберігайте належним чином аліквоти відновленого стандартного розчину,
- позитивного контролю та Розчин POD-кон'югату. Вони залишатимуться стабільними протягом 1 місяця, якщо зберігати нижче -30 °С. Уникайте повторних циклів заморожування-розморожування. Замініть невикористані стріпи в алюмінієвому конверті з осушувачем. Зберігати при температурі 2-8 °С разом із іншими реагентами.
- Для кожного аналізу необхідно побудувати стандартну криву.
- Поводьтеся зі зразками обережно, щоб уникнути можливості інфекції.
- Розчинник зразка містить невелику кількість азиду натрію. Азид натрію може утворювати вибухонебезпечний азидний метал, якщо він забруднений свинцем або міддю.
Промийте великою кількістю води, щоб запобігти накопиченню азиду перед утилізацією.
- Стоп-розчин є кислим (рН нижче 2). Тому слід бути обережним уникайте контакту зі шкірою та очима.
- Усі реагенти та зразки слід розглядати як потенційно небезпечні. Обережно поведіться зі зразками та утилізуйте їх. У разі контакту зі шкірою або слизовою оболонку, негайно промийте великою кількістю води. Зверніться до лікаря, якщо виникнуть будь-які відхилення.












9. ПОСИЛАННЯ

- Такешіта С та ін. Остеобласт-специфічний фактор 2: клонування передбачуваного білка кісткової адгезії з гомологією з білком комах фасциліном II. *Biochem J* 1993; 294: 271-278.
- Kii I та ін. Включення тенасцину-C у позаклітинний матрикс періостином лежить в основі архітектури позаклітинної сітки. *J Biol Chem* 2010; 285: 2028-2039.
- Такаяма Г. та ін. Періостин: новий компонент субепітеліального фіброзу бронхіальної астми нижче за течією від сигналів IL-4 та IL-13. *J Allergy Clin Immunol* 2006; 118: 98-104.
- Окамото М та ін. Періостин, матриксний білок, є новим біомаркером ідіопатичних інтерстиціальних пневмоній. *Eur Respir J* 2011; 37: 1119-1127.
- Масуока М та ін. Періостин сприяє хронічному алергічному запаленню у відповідь на цитокіни Th2. *J Clin Invest* 2012; 122: 2590-2600.
- Kanemitsu Y та ін. Підвищений періостин пов'язаний з більшим обмеженням потоку повітря у пацієнтів, які отримують інгаляційні кортикостероїди. *J Allergy Clin Immunol* 2013; 132: 305-312.
- Ямагучі Й та ін. Рівень періостину в сироватці крові корелює з прогресуючим склерозом шкіри у пацієнтів із системним склерозом. *Bг J Dermatol* 2013; 168: 717-725.
- Фудзімото К. та ін. Періостин, матриксний білок, має потенціал як новий серодіагностичний маркер холангіокарциноми. *Oncol Rep* 2011; 25: 1211-1216.
- Йошіда С та ін. Підвищена експресія періостину у склоподібному тілі та фіброваскулярних мембранах, отриманих від пацієнтів з проліферативною діабетичною ретинопатією. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2011; 52: 5670-5678.
- Cogren J та ін. Лікування лебрикзумабом у дорослих з астмою. *N Engl J Med* 2011; 365: 1088-1098.

КОРПОРАЦІЯ ШІНО-ТЕСТ

4-1-93 Oonodai, Minami-ku, Sagamihara-shi, Kanagawa 252-0331, Japan
https://www.shino-test.co.jp/en/

УМОВНІ ПОЗНАЧЕННЯ

REF	№ Кат.:
LOT	№ Партії:
	Використати до:
	Кількість тестів:
CONC	Концентрат
LYO	Ліофілізований
IVD	Медичний пристрій для діагностики in vitro
	Оціночний набір
	Прочитайте інструкцію перед використанням
	Зберігати подаль від джерел тепла і прямого сонячного світла.
	Зберігати при температурі:
	Виробник:
	Увага!
	Містить біологічний матеріал людського походження
	Містить біологічний матеріал тваринного походження
UDI	Унікальна ідентифікація пристрою
	Дистриб'ютор
Умовні позначення компонентів див. у розділі «Матеріали, що входять до набору».	

СКАРГИ: Скарги можуть бути подані спочатку письмово або усно. Згодом їх необхідно подати в письмовій формі, включаючи виконання тесту та результати, у разі аналітичних причин.

ГАРАНТІЯ: Гарантується, що продукт не має матеріальних дефектів протягом визначеного терміну придатності та відповідає специфікаціям продукту, що постачаються разом із продуктом. Продукт необхідно використовувати відповідно до використання за призначенням, усіх інструкцій, наведених в інструкції із застосування, та протягом терміну придатності продукту. Будь-яка модифікація процедури тестування або обмін чи змішування компонентів різних партій може негативно вплинути на результати. Ці випадки роблять будь-яку вимогу про заміну недейсною.

ОБМЕЖЕННЯ ВІДПОВІДАЛЬНОСТІ: ЗА ВСІХ ОБСТАВИН ОБСЯГ ВІДПОВІДАЛЬНОСТІ ВИРОБНИКА ОБМЕЖУЄТЬСЯ ЦІНОЮ ПОКУПКИ НАБОРІВ. ВИРОБНИК У ЖОДНОМУ РАЗІ НЕ НЕСЕ ВІДПОВІДАЛЬНОСТІ ЗА БУДЬ-ЯКІ ВИПАДКОВІ АБО НЕПРЯМІ ЗБИТКИ, ВКЛЮЧАЮЧИ ЗБИТКИ ВІД ВТРАЧЕНОГО ПРИБУТКУ, ВТРАТИ ПРОДАЖІВ, ПОВЕДЕННЯ ЛЮДИНИ ЧИ МАЙНА АБО БУДЬ-ЯКИХ ІНШИХ ВИПАДКОВИХ АБО НЕПРЯМИХ ЗБИТКІВ.

Маркування небезпечних речовин відповідає європейській директиві.

Для отримання додаткової класифікації для певної країни, будь ласка, зверніться до відповідного паспорта безпеки

IBL International GmbH



Флюгафенштрассе, 52а
22335 Гамбург, Німеччина

Телеф

он: +49 (0)40-53 28 91-0
Факс: +49 (0)40-53 28 91-11

IBL@tecan.com
www.tecan.com/ibl

Always there for you