

Інструкція з використання



IBL International GmbH
Flughafenstraße 52 a
22335 Гамбург,
Німеччина

Тел. +49 (0) 40 53 28 91-0
Факс +49 (0) 40 53 28 91-11

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

TGF-бета-1 людини ІФА

Набір TGF β 1 ІФА — це твердофазний сендвіч-ІФА для *in vitro* якісного та кількісного визначення TGF β 1 у супернатантах, буферних розчинах або зразках сироватки та плазми. Цей аналіз розпізнає як природний, так і рекомбінантний TGF β 1 людини.

REF 30245307

 **96**

Тільки для досліджень.

Для проведення аналізу слід 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

Розповсюджується: **IBL International GmbH**
Flughafenstrasse 52a
22335 Гамбург, Німеччина

Always there for you



Зміст

1.	Використання за призначенням	3
2.	вступ.....	3
2.1.	Резюме	3
2.2.	Принцип методу	4
3.	Реагенти в наборі та відновлення	4
4.	Необхідні матеріали, але не надаються.....	4
5.	Інструкції щодо зберігання	5
6.	Збір, обробка та зберігання зразків	5
7.	Безпека та застереження щодо використання.....	6
8.	Приготування аналізу	7
8.1.	Дизайн аналізу	7
8.2.	Приготування промивного буфера	7
8.3.	Приготування буфера для аналізу	7
8.4.	Підготовка стандарту	8
8.5.	Підготовка зразків	8
8.6.	Приготування біотинового кон'югату	8
8.7.	Препарат стрептавідин-HRP	8
9.	метод	9
10.	Аналіз даних.....	10
11.	Обмеження аналізу.....	10
12.	Експлуатаційні характеристики	11
12.1.	Чутливість	11
12.2.	Специфічність	11
12.3.	Точність	11
12.4.	Паралелізм розведення	11
12.5.	Відновлення збагаченням	11
12.6.	Стабільність	12
12.7.	Очікувані значення сироватки.....	12
13.	Бібліографія.....	13
14.	Резюме аналізу	14

1. Використання за призначенням

TGFβ1 набір ІФА — це твердофазний сендвіч ІФА для якісного та кількісного визначення TGF in vitro β1 у супернатантах, буферних розчинах або зразках сироватки та плазми. Цей аналіз розпізнає як природний, так і рекомбінантний TGF людини β1.

Цей набір налаштовано лише для дослідницького використання. Не підходить для використання в терапевтичних процедурах.

2. Вступ

2.1. Резюме

Трансформуючий фактор росту-β(TGF-β) належить до сімейства димерних поліпептидів 25 кДа, які повсюдно поширені в тканинах і синтезуються багатьма різними клітинами (13). Три ізоформи трансформуючого фактора росту-β(TGF-бета1, бета-2 і бета-3) існують у ссавців. Вони відіграють важливу роль у регуляції росту та розвитку. Кожна ізоформа кодується унікальним геном у різних хромосомах. Усі ці три фактори росту секретуються більшістю типів клітин, як правило, у латентній формі, що потребує активації, перш ніж вони зможуть проявити біологічну активність. TGF-бета має три основні дії: вони пригнічують проліферацію більшості клітин, але можуть стимулювати ріст деяких мезенхімальних клітин; вони мають імуносупресивну дію та посилюють утворення позаклітинного матриксу. У передачі сигналу беруть участь два типи мембранних рецепторів, що володіють кіназною активністю. Бета-фактори TGF беруть участь у процесах загоєння рани та у запуску запальної реакції, а потім у вирішенні через хемотаксичне залучення запальних клітин і фібробластів (15).

TGF-β1 є першим визнаним трансформуючим фактором росту (5), його субодиниці з масою 12,5 кДа пов'язані дисульфідними містками. TGF-β1 інгібує проліферацію Т- і В-клітин, а також дозрівання та активацію макрофагів. Крім того, він пригнічує активність природних клітин-кілерів і клітин-кілерів, активованих лімфокинами, і блокує вироблення цитокінів.

Вимірювання TGF-β1 в крові рекомендували для діагностики різних захворювань. TGF-β1 було показано, що він є організатором відповідей на нейродегенерацію (10).

У цьому контексті цікавим виявилось спостереження за хворобою Альцгеймера (18), синдромом Дауна, СНІДом і хворобою Паркінсона (11). Було показано, що рівні сироватки та цереброспінальної рідини пацієнтів з розсіяним склерозом мають велике значення для моніторингу ремісії та гострих фаз (4, 21). TGF-β. Вважається, що 1 відіграє важливу роль у метаболізмі кісткової тканини (22), його вважають передбачуваним регулятором остеокластно-остеобластної взаємодії, тому його можна розглядати як маркер остеопору (14). TGF-β1 бере участь у патогенезі захворювань клубочків (3, 23), таких як діабетична нефропатія та гломерулосклероз (28). TGF-β1 було описано як функціонально пов'язане з основними порушеннями імунної системи, як при аутоімунитеті (SLE) (8). Було показано, що сироваткові рівні корелюють з активністю захворювання при аутоімунному гепатиті (2). Підвищені рівні TGF-β1 визначаються у пацієнтів із синдромом хронічної втоми (6) та пацієнтів із синдромом Гієна-Бера (24). Описана зворотна кореляція з активністю захворювання βРівні TGF1 - при хворобі Кавасакі (17) і пацієнтів з дефіцитом IgA (19).

TGF-β1, як було підтверджено, стимулює фіброзні процеси, отже, він причетний до мієлофіброзу з мієлоїдною метаплазією (16). Підвищення рівня TGF-β1 у пацієнтів, уражених тромботичною тромбоцитопенічною пурпурою, вказують на його функцію на гемопоєз кісткового мозку (29, 25).

Визначення циркулюючого TGF-βВиявилось, що 1 відображає різні стадії солідних пухлин, як це було показано для раку шийки матки (7), підвищення також виявлено при раку простати (27), раку сечового міхура (9) і раку печінки (20).

Зниження рівня TGF-β1 у сироватці крові пацієнтів із сепсисом та гострим інсультом (1, 12) може відображати зміну імунологічного та запального статусу цих пацієнтів. Зниження TGF-β1 рівні сироватки були описані для пацієнтів з гострою малярією *Plasmodium falciparum* (26).

2.2. Принцип методу

Захоплююче антитіло, високоспецифічне для TGFβ1 було нанесено покриття на лунки мікропланшета, наданого під час виробництва. Зв'язування TGFβ1 у зразках і відомих стандартах для захоплення антитіл завершено, а потім будь-який надлишок незв'язаного аналіту видаляється.

Протягом наступного інкубаційного періоду зв'язування біотин-кон'югованого анти-TGFβ1 Виникає 1 антитіло до аналіту. Потім видаляють надлишок незв'язаного вторинного антитіла.

Потім розчин кон'югату HRP додають до кожної лунки, включаючи нульові лунки, після інкубації надлишок кон'югату видаляють шляхом ретельного промивання.

До лунок додається хромогенний субстрат, що призводить до прогресивного розвитку комплексу синього кольору з кон'югатом. Потім розвиток забарвлення зупиняється додаванням кислоти, що перетворює кінцевий продукт у жовтий колір. Інтенсивність утворення забарвленого комплексу прямо пропорційна концентрації TGFβ1 присутній у зразках і стандартах.

Потім вимірюється поглинання кольорового комплексу, а отримані значення ОГ для кожного стандарту наносяться на графік відносно очікуваної концентрації, утворюючи стандартну криву. Цю стандартну криву потім можна використовувати для точного визначення концентрації TGFβ1 у будь-якому перевіреному зразку.

3. Надані реагенти та відновлення

Реагенти (Store@2-8°C)	Кількість Набор лунок 2x96	Відтворення
96 лунок мікропланшета з покриттям	2	Готовий до використання
покриття пластин	4	n/a
TGFβ1 Стандарт	4	Розчиніть відповідно до вказівок на флаконі (див. Підготовка до аналізу, розділ 8)
Біотин-кон'югат анти-TGFβ1	2 (120мкл)	Розведіть у 100 разів буфером для аналізу (див. Підготовка до аналізу, розділ 8)
Стрептавідін-HRP	2 (150мкл)	Розведіть у 100 разів буфером для аналізу (див. Підготовка до аналізу, розділ 8)
Буфер для аналізу	2 (5 мл)	20X концентрат розвести в дистильованій воді (див. Підготовка до аналізу, розділ 8)
Промивний буфер	2 (50 мл)	20X концентрат розвести в дистильованій воді (див. Підготовка до аналізу, розділ 8)
Розчин субстрату	2 (15 мл)	Готовий до використання
Стоп розчин	2 (15 мл)	Готовий до використання

4. Матеріали необхідні, але не надаються

- Для проведення тесту необхідні 1N NaOH і 1N HCL
- Зчитувач мікропланшетів із відповідними фільтрами (потрібно 450 нм із додатковим еталонним фільтром 620 нм)
- Вошер для мікропланшетів або пляшка для промивання
- 10, 50, 100, 200 і 1000 мкл регульовані одноканальні мікропіпетки з одноразовими наконечниками
- Багатоканальна мікропіпетка на 50-300 мкл з одноразовими наконечниками
- Ємності для реагентів багатоканальної мікропіпетки
- Дистильована вода
- Вихровий змішувач
- Різний лабораторний пластик та/або скло, якщо можливо, стерильний

5. Інструкції зі зберігання

Зберігайте реагенти набору при температурі від 2 до 8°C. Відразу після використання залишки реагентів слід повернути в холодне зберігання (2-8°C). Термін придатності набору та реагентів вказано на передній етикетці коробки. Термін придатності компонентів набору може бути гарантований лише за умови належного зберігання компонентів і якщо у разі повторного використання одного компонента реагент не забруднений під час першого використання.

Промивний буфер 1X:Після приготування зберігати при температурі 2-8°C до 1 місяця.

Буфер для аналізу 1X:Після приготування зберігати при температурі 2-8°C до 1 місяця.

Відновлений стандарт:Після приготування використовуйте негайно і не зберігайте.

Розведений біотиновий кон'югат анти-TGFβ1:Після приготування використовуйте негайно і не зберігайте.

Розведений стрептавідин-HRP:Після приготування використовуйте негайно і не зберігайте.

6. Збір, обробка та зберігання зразків

Супернатанти клітинних культур, людська сироватка, плазма або інші біологічні зразки підходять для використання в аналізі. Видаліть сироватку з згустку або еритроцитів, відповідно, якомога швидше після згортання та відділення.

Супернатанти клітинної культури:Видаліть частинки та агрегати, віджимаючи при приблизно 1000 xg протягом 10 хв.

Сироватка:Використовуйте збірні пробірки без пірогенів/ендотоксинів. Сироватку слід швидко й обережно видалити з еритроцитів після згортання. Після згортання відцентрифугуйте при приблизно 1000 x g протягом 10 хвилин і видаліть сироватку.

плазма:Можна аналізувати ЕДТА, цитрат і гепарин у плазмі. Оберніть зразки при 1000 xg протягом 30 хвилин, щоб видалити частки. Збір плазми.

Зберігання:Якщо аналіз не проводиться незабаром після збору, зразки слід розділити на аліквоти (250-500 мкл), щоб уникнути повторних циклів заморожування-розморожування, і зберігати в замороженому вигляді при -70°C. Уникайте багаторазових циклів заморожування-розморожування заморожених зразків.

Рекомендація:Не розморожувати шляхом нагрівання при 37°C або 56°C. Розморозьте при кімнатній температурі та переконайтеся, що зразок повністю розморожений і однорідний перед використанням. По можливості уникайте використання сильно гемолізованих або ліпемічних сироваток. Якщо присутні великі частки, їх слід видалити перед використанням шляхом центрифугування або фільтрації.

Примітка:Зверніть увагу на можливий підвищений порожній сигнал у зразках супернатантів клітинної культури, що містять компоненти сироватки (наприклад, FCS), через приховані рівні TGF бета в сироватці тварин.

7. Безпека та запобіжні заходи при використанні

- Поводження з реагентами, зразками сироватки або плазми має відбуватися згідно з місцевими процедурами безпеки, наприклад CDC/NIH Health manual: «Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories» 1984.
- Лабораторні рукавички слід носити весь час.
- Уникайте контакту стоп-розчину та розчину субстрату зі шкірою. У разі контакту ретельно промити водою.
- Не їжте, не пийте, не куріть і не застосовуйте косметику там, де використовуються реагенти.
- Не піпетуйте ротом.
- Коли компоненти набору не використовуються, їх слід зберігати в холодильнику, як зазначено на етикетках флаконів або пляшок.
- Усі реагенти перед використанням слід нагріти до кімнатної температури. Ліофілізовані стандарти слід утилізувати після використання.
- Після того, як бажану кількість стріпів буде видалено, негайно знову закрийте пакет, щоб захистити решту стріпів від псування.
- Накривайте або закривайте всі реагенти, коли вони не використовуються.
- Не змішуйте та не замінюйте реагенти між різними партіями.
- Не використовуйте реагенти після закінчення терміну придатності набору.
- Використовуйте чистий одноразовий пластиковий наконечник піпетки для кожного додавання реагенту, стандарту або зразка, щоб уникнути перехресного забруднення, для дозування стоп-розчину та розчину субстрату уникайте піпеток з металевими частинами.
- Для приготування миючого розчину використовуйте чисту пластикову ємність.
- Ретельно перемішайте реагенти та зразки перед використанням, перемішуючи або перемішуючи.
- Усю залишкову промивну рідину необхідно злити з лунок шляхом ефективної аспірації або декантації з подальшим стуканням планшета по абсорбуючому паперу. Ніколи не вставляйте абсорбуючий папір безпосередньо в лунки.
- Розчин субстрату чутливий до світла. Уникайте тривалого впливу світла. Крім того, уникайте контакту розчину ТМБ з металом, щоб запобігти розвитку кольору. Попередження Субстрат Розчин токсичний, уникайте прямого контакту з руками. Утилізуйте належним чином.
- Якщо протягом кількох хвилин після приготування з'являється темно-синє забарвлення, це означає, що розчин субстрату був забруднений і його слід викинути. Зчитайте поглинання протягом 1 години після завершення аналізу.
- Під час піпетування реагентів дотримуйтеся послідовного порядку додавання від лунки до лунки. Це забезпечить однаковий час інкубації для всіх лунок.
- Дотримуйтеся часу інкубації, описаного в процедурі аналізу.
- Розподіліть розчин субстрату протягом 15 хвилин після промивання мікропланшета.

8. Підготовка аналізу

Перед використанням доведіть усі реагенти до кімнатної температури

8.1. Дизайн аналізу

Визначте кількість мікролуночних стріпів, необхідних для перевірки бажаної кількості зразків плюс відповідну кількість лунок, необхідних для запуску нулів і стандартів. Кожен зразок, стандартний і нульовий, повинні бути перевірені в двох примірниках. Безпосередньо перед використанням вийміть достатню кількість стріпів для тестування з пакета. Поверніть будь-які лунки, які не потрібні для цього аналізу, з осушувачем у пакет. Щільно закрийте та поставте на зберігання при 2-8°C.

Приклад оформлення таблички (наведений приклад для 6-точкової стандартної кривої)

	Стандарти		Лунки зразків									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	2000	2000										
B	1000	1000										
C	500	500										
D	250	250										
E	125	125										
F	62,5	62,5										
G	Бланк	Бланк										

Н

Усі порожні лунки, що залишилися, можна використовувати для дублювання зразків

8.2. Приготування промивного буфера

Якщо в концентраті промивного буфера утворилися кристали, обережно нагрійте його, поки вони повністю не розчиняться.

Перелийте весь вміст (50 мл) концентрату промивного буфера в чистий градуйований циліндр на 1000 мл. Доведіть кінцевий об'єм до 1000 мл скляною дистильованою або дейонізованою водою. Акуратно перемішайте, щоб уникнути утворення піни. Рівень pH кінцевого розчину має дорівнювати 7,4.

Перемістіть у чисту пляшку для промивання та зберігайте при температурі від 2° до 25°C.

8.3. Приготування буфера для аналізу

Добре перемішайте вміст пляшки. Додайте вміст концентрату буфера для аналізу (5,0 мл) до 95 мл дистильованої або дейонізованої води та обережно перемішайте, щоб уникнути утворення піни. Зберігати при температурі від 2° до 8°C.

8.4. Підготовка стандарту

Флакони стандартів необхідно розвести об'ємом дистильованої води, вказаним на флаконі, безпосередньо перед використанням. Це відновлення дає основний розчин 4000 пг/мл TGFβ1. Акуратно перемішайте відновлений стандарт лише інверсією. Серійні розведення стандарту роблять безпосередньо в планшеті для аналізу для забезпечення діапазону концентрації від 2000 до 62,5 пг/мл. Для кожного нового аналізу слід створювати нову стандартну криву.

- Додайте 100 мкл буфера для аналізу в усі стандартні та лунки бланк.
- Відразу після розчинення додайте 100μл відновленого стандарту в лунки A1 і A2, що забезпечує стандарт найвищої концентрації 2000 пг/мл. Перемішайте вміст лунок повторними аспіраціями та викидами, обережно, щоб не подрпати внутрішню поверхню лунок.
- Перенесіть 100 мкл з лунок A1 і A2 в B1 і B2. Перемішайте вміст лунок повторними аспіраціями та викидами, обережно, щоб не подрпати внутрішню поверхню лунок.
- Продовжуйте це розведення 1:1, використовуючи 100 мкл від лунок B1 і B2 до лунок F1 і F2, забезпечуючи стандартну криву серійного розведення в діапазоні від 2000 до 62,5 пг/мл
- Видаліть 100 мкл з останніх лунок стандартної кривої (F1 і F2)

В якості альтернативи ці розведення можна проводити в окремих чистих пробірках і негайно переносити безпосередньо у відповідні лунки.

8.5. Підготовка зразків

Підготуйте зразки перед початком процедури тестування.

Розведіть зразки сироватки, плазми та культури клітин 1:10 буфером для аналізу 1X (180 мкл буфера для аналізу + 20 мкл зразка).

Додайте 20 мкл 1N HCl (див. «Матеріали, необхідні, але не надаються») до 200 мкл попередньо розведеного зразка, перемішайте та інкубуйте протягом 1 години при кімнатній температурі. Нейтралізуйте, додавши 20 мкл 1N NaOH (див. «Матеріали, необхідні, але не надаються»). Вихор!

8.6. Приготування біотинового кон'югату

Цей реагент рекомендується готувати безпосередньо перед використанням.

Зробіть 1:100 розведення концентрованого розчину біотин-кон'югату з буфером для аналізу в чистій пластиковій пробірці відповідно до наступної таблиці:

Номер стріпів	біотин- Кон'югат (мкл)	аналіз Буфер (мл)
1 - 6	60	5.94
1 - 12	120	11.88

8.7. Препарат стрептавідин-HRP

Цей реагент рекомендується готувати безпосередньо перед використанням.

Зробіть 1:100 розведення концентрованого розчину стрептавідину-HRP з буфером для аналізу в чистій пластиковій пробірці відповідно до наведеної нижче таблиці:

Номер стріпів	Стрептавідин-HRP (мкл)	аналіз Буфер (мл)
1 - 6	60	5.94
1 - 12	120	11.88

9. Спосіб

Ми наполегливо рекомендуємо кожен флакон ретельно перемішати без утворення піни перед використанням.

Підготуйте всі реагенти, як показано в розділі 8.

Примітка: остаточне приготування кон'югату біотин (розділ 8.6) і стрептавідин-HRP (розділ 8.7) має відбуватися безпосередньо перед використанням.

Крок аналізу		Подробиці
1.	промивання	Вийміть попередньо покриту пластину з герметичної упаковки, видаліть усі непотрібні стріпи і вимийте планшет наступним чином: а) Розподіліть 0,3 мл 1x промивного розчину в кожен лунку б) Аспіруйте вміст кожної лунки в) Повторіть кроки а і б ще двічі
2.	Доповнення	Підготуйте стандартну криву як показано в розділі 8.4
3.	Доповнення	Додайте 60μл буфера для аналізу та 40 мкл кожного попередньо обробленого зразка (див. розділ 8.5, абсолютно необхідно змішати зразки!) двох примірників відповідно до кількості лунок
4.	Інкубація	Накрийте пластиковою кришкою та інкубуйте при кімнатній температурі (18–25°C) протягом 2 Години на шейкері для мікропланшетів зі швидкістю 400 об/хв. (Струшування абсолютно необхідно для оптимальної продуктивності тесту.)
5.	промивання	Зніміть кришку та вимийте планшет наступним чином: а) Аспіруйте рідину з кожної лунки б) Розподіліть 0,3 мл 1x промивного розчину в кожен лунку в) Аспіруйте вміст кожної лунки г) Повторіть кроки б і в ще двічі
6.	Доповнення	Додайте 100 мкл розведеного біотинового кон'югату в усі лунки
7.	Інкубація	Накрийте пластиковою кришкою та інкубуйте при кімнатній температурі (18–25°C) протягом 1 Години на шейкері для мікропланшетів зі швидкістю 400 об/хв. (Струшування абсолютно необхідно для оптимальної продуктивності тесту.)
8.	промивання	Повторіть крок 5 прання.
9.	Доповнення	Додайте 100 мкл розведеного розчину Стрептавідин-HRP в усі лунки
10.	Інкубація	Накрийте пластиковою кришкою та інкубуйте при кімнатній температурі (18–25°C) протягом 1 Години на шейкері для мікропланшетів зі швидкістю 400 об/хв. (Струшування абсолютно необхідно для оптимальної продуктивності тесту.)
11.	промивання	Повторіть крок 5 прання.
12.	Доповнення	Додайте 100 мкл готового до використання розчину субстрату в усі лунки
13.	Інкубація	Інкубуйте 30 хвилин* при кімнатній температурі. Уникайте прямого впливу світла загорання пластини в алюмінієву фольгу
14.	Доповнення	Додайте 100 мкл стоп-розчину в усі лунки

Прочитайте поглинання значення кожної лунки (відразу після кроку 14) на спектрофотометрі, використовуючи 450 нм як основну довжину хвилі та необов'язково 620 нм як еталонну довжину хвилі (від 610 нм до 650 нм є прийнятним).

**Час інкубації розчину субстрату зазвичай визначається продуктивністю ІФА-рідера. Багато пристроїв для зчитування ІФА реєструють поглинання лише до 2,0 ОД. Тому аналітик повинен спостерігати за розвитком кольору в окремих мікролунках, і реакцію субстрату припиняють до того, як позитивні лунки перестануть перебувати в діапазоні запису.*

10. Аналіз даних

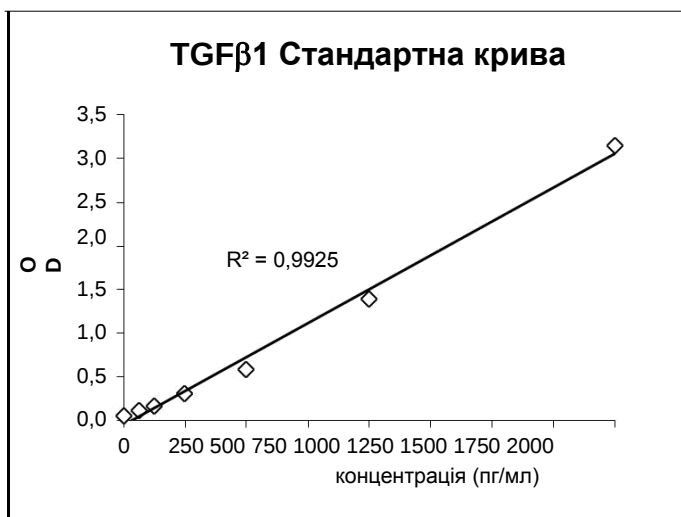
Обчисліть середні значення поглинання для кожного набору дублікатів стандартів, контролів і зразків. В ідеалі дублікати повинні бути в межах 20% від середнього.

Створіть лінійну стандартну криву, поклавши середнє поглинання кожного стандарту на вертикальну вісь у порівнянні з відповідним TGFβ1 стандартна концентрація по горизонтальній осі.

Кількість TGFβ1 у кожному зразку визначається шляхом екстраполяції значень ОГ проти TGFβ1 стандартні концентрації за допомогою стандартної кривої.

Приклад TGFβ1 Стандартна крива

Стандарт	TGFβ1 конц (пг/мл)	ОГ (450 нм) Середній	CV (%)
1	2000 рік	3.148	2.5
2	1000	1,387	1.0
3	500	0,590	0,4
4	250	0,313	4.1
5	125	0,172	3.5
6	62.5	0,112	2.0
Нуль	0	0,051	2.0



Примітка:показану вище криву не слід використовувати для визначення результатів. Кожна лабораторія повинна створити стандартну криву для кожного аналізованого набору стріпів мікролунок.

Для зразків, які були розведені згідно з протоколом (1:30), розраховану концентрацію слід помножити на коефіцієнт розведення.

11. Обмеження аналізу

Не екстраполуйте стандартну криву за межі максимальної точки стандартної кривої. Залежність «доза-відповідь» є нелінійною в цій області, і хорошу точність отримати важко. Концентровані зразки, що перевищують максимальну стандартну концентрацію, необхідно розбавити стандартним розріджувачем або вашим власним буфером для зразків, щоб отримати значення OD у межах стандартної кривої. Після аналізу таких зразків завжди множите результати на відповідний коефіцієнт розведення, щоб отримати фактичну кінцеву концентрацію.

Вплив різних препаратів на кінцеві результати не досліджувався. Бактеріальне або грибкове зараження та лабораторне перехресне зараження також можуть спричинити нерегулярні результати.

Неправильне або недостатнє миття на будь-якому етапі процедури призведе до хибнопозитивних або хибнонегативних результатів. Повністю спорожніть лунки перед розливом свіжого промивного буфера, заповніть промивним буфером, як зазначено для кожного циклу промивання, і не дозволяйте лункам залишатися непокритими або висихати протягом тривалого часу.

Перевага надається одноразовим наконечникам для піпеток, колбам або скляному посуду, багаторазовий скляний посуд необхідно вимити та ретельно промити від усіх м'яких засобів перед використанням.

Як і для більшості біологічних аналізів, умови можуть відрізнятися від аналізу до аналізу, тому для кожного аналізу необхідно підготувати нову стандартну криву та виконати її.

12. Експлуатаційні характеристики

12.1. Чутливість

Межа виявлення TGF людини β 1, визначена як концентрація аналіту, що призводить до поглинання, значно більшої, ніж у середовища для розведення (середнє значення плюс 2 стандартних відхилення), було визначено як 8,6 пг/мл (середнє значення з 6 незалежних аналізів).

12.2. Специфічність

Аналіз виявляє як природний, так і рекомбінантний людський TGF β 1. Перехресна реактивність TGF β 2 і TGF β 3, і TNF β , IL-8, IL-6, IL-2, TNF α , IL-1 β , IL-4, IFN γ , IL12p70, IL-5 та IL-10 оцінювали шляхом додавання цих білків у фізіологічно відповідних концентраціях у сироватку. Перехресної реакції не виявлено.

12.3. Точність

В аналізі

Відтворюваність у межах аналізу оцінювали у трьох незалежних експериментах. Кожен аналіз проводили з 6 повторами 8 зразків сироватки, що містять різні концентрації TGF β 1.

Розрахований загальний коефіцієнт варіації склав 3,2%.

Між аналізами

Відтворюваність аналізу в одній лабораторії оцінювали в трьох незалежних експериментах. Кожен аналіз проводили з 6 повторами 8 зразків сироватки, що містять різні концентрації TGF β 1:

Розрахований загальний коефіцієнт варіації склав 4,9%.

12.4. Паралелізм розведення

Зразки супернатантів сироватки, плазми та культури клітин з різними рівнями TGF- β 1 аналізували в серійних 2-кратних розведеннях з 4 повторами кожного.

Зразок матриці	Відновлення Екр. Вал.	
	Середній (%)	Діапазон (%)
Сироватка	104	97-112
Плазма (EDTA)	129	119-138
Плазма (цитрат)	119	108-130
Плазма (гепарин)	126	121-130
Культура клітин супернатант	106	95-118

12.5. Відновлення збагаченням

Відновлення збагаченням оцінювали за допомогою 3 рівнів TGF людини β 1 у сироватку, плазму та супернатант культури клітин. Відновлення визначали з 4 репліками кожного. Кількість ендogenous TGF людини β 1 у зразках без добавок було віднято від значень добавок.

Зразок матриці	Шип високий (%)	Шип середній (%)	Шип низький (%)
Сироватка	85	97	96
Плазма (EDTA)	90	84	82
Плазма (цитрат)	108	92	92
Плазма (гепарин)	110	87	93
Супернатант клітинної культури	87	85	95

12.6. Стабільність

Стабільність зберігання

Аліквоти зразка сироватки (з додаванням або без додавання) зберігали при -20°C, 2-8°C, кімнатній температурі (RT) і при 37°C, а TGF людиниβ1 рівень визначається через 24 год. Не було значної втрати TGF людиниβ1 імунореактивності, виявлена під час зберігання в зазначених вище умовах.

Стабільність при заморожуванні-відтаванні

Аліквоти зразків сироватки (без додавання або додавання) зберігали при -20°C і розморожували 5 разів, а TGF людиниβ1 визначено рівні. Не було значної втрати TGF людиниβ1 імунореактивності, виявленої при заморожуванні або відтаванні.

12.7. Очікувані значення сироватки

Група зразків від випадково відібраних очевидно здорових донорів (чоловіків і жінок) була протестована на TGF людиниβ1.

Зразок матриці	Кількість оцінені зразки	Діапазон (пг/мл)	Середній (пг/мл)	Стандартний відхилення (пг/мл)
Сироватка	16	5222-13731	6723	1978 рік
плазма (EDTA)	40	0-2644	729	389
плазма (цитрат)	40	908-3378	1726 рік	578
плазма (гепарин)	40	0-377	46	96

13. Бібліографія

1. Astiz M and al, J Lab Clin Med 1996 Dec;128(6):594-600.
2. Bayer EM and al, J Hepatol 1998 May;28(5):803-811.
3. Кордон WA. Curr Opin Nephrol Hypertens 1994 Jan;3(1):54-58.
4. Carrieri PB та інші, Neurol Res 1997 Dec;19(6):599-600.
5. Chambaz EM та інші, Horm Res 1996;45(3-5):222-226.
6. Chao CC та інші, Cytokine 1991 Jul;3(4):292-298.
7. Чопра В та інші, Cancer Invest 1998;16(3):152-159.
8. Del Giudice G та інші, Lupus 1993 Aug;2(4):213-220.
9. Eder IE та інші, Br J Cancer 1997;75(12):1753-1760.
10. Finch CE та інші, J Cell Biochem 1993 Dec;53(4):314-322.
11. Flanders KC та інші, Prog Neurobiol 1998 Jan;54(1):71-85.
12. Кім Дж.С. та інші, Stroke 1996 Sep;27(9):1553-1557.
13. Kropf J та інші, Клінічна хімія 1997;43(10):1965-1974.
14. Langdahl BL and al, Bone 1997 Mar;20(3):289-294.
15. Лоуренс Д.А., Eur Cytokine Netw 1996 Sep;7(3):363-374.
16. Martyre MC та інші, Br J Haematol 1991 Jan;77(1):80-86.
17. Matsubara та інші, Scand J Rheumatol 1997; 26 (4): 314-317.
18. Mattson MP та інші, Brain Res Rev 1997 Feb;23(1-2):47-61.
19. Muller F та інші, Clin Immunol Immunopathol 1995 Aug;76(2):203-208.
20. Murawaki Y та інші, J Gastroenterol Hepatol 1996 May;11(5):443-450.
21. Ossege LM та інші, J Neuroimmunol 1998 Apr 1;84(1):1-6.
22. Pfeilschifter J та інші, J Bone Miner Res 1998 Apr;13(4):716-730.
23. Shankland SJ та інші, Miner Electrolyte Metab 1998; 24 (2-3): 168-173.
24. Сіндерн Е та інші, J Neurol 1996 Березень; 243 (3): 264-268.
25. Торнквіст SJ та інші, J Gen Virol 1997 жовтень;78(Pt 10):2541-2548.
26. Wenisch C and al, J Clin Immunol 1995 Mar;15(2):69-73.
27. Wolff JM та інші, Br J Urol 1998 Mar;81(3):403-405.
28. Yokoyama H and al, Diabet Med 1996 Apr;13(4):313-320.
29. Zauli G and al, Br J Haematol 1993 Jul;84(3):381-386.

14. Резюме аналізу

Загальна тривалість процедури: 4 години 30 хвилин

Додайте попередньо оброблений зразок і розведений стандарт



Інкубуйте 2 години при кімнатній температурі



Промивання тричі



Додайте 100 мкл біотинового кон'югату



Інкубуйте 1 годину при кімнатній температурі



Промивання тричі



Додайте 100 мкл Срептавідин-HRP



Інкубуйте 1 годину при кімнатній температурі



Промивання тричі



Додайте 100 мкл розчину субстрату
Берегти від світла. Залиште колір на 30 хв.



Додайте 100 мкл стоп-розчину



Зчитайте поглинання при 450 нм

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 поодаль 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 дефектів матеріалу 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 недійсною.

ОБМЕЖЕННЯ ВІДПОВІДАЛЬНОСТІ:ЗА БУДЬ-ЯКИХ ОБСТАВИН ОБСЯГ ВІДПОВІДАЛЬНОСТІ ВИРОБНИКА ОБМЕЖУЄТЬСЯ ЦІНОЮ ПОКУПКИ КОМПЛЕКТІВ. 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.

IBL International GmbH



Flughafenstrasse 52a
22335 Гамбург, Німеччина

телефо

н: +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