

## НАБОР ИФА

# ДЛЯ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ МОЗГОВОГО НЕЙРОТРОФИЧЕСКОГО ФАКТОРА (BDNF) ЧЕЛОВЕКА В СУПЕРНАТАНТЕ КУЛЬТУРЫ КЛЕТОК, СЫВОРОТКЕ И ПЛАЗМЕ

### BD00, Human BDNF Immunoassay

Каталог. № : **DBD00**

Количество : **96**

Производитель: **R&D (Великобритания)**

Методика от **07-12**

Версия **750275.9**



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 диагностического использования**

#### **КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ И ОБЪЯСНЕНИЕ**

Зрелая молекула BDNF человека имеет молекулярную массу 13 кДа и состоит из 119 негликозилированных аминокислотных остатков, при этом первичная структура молекулы одинакова у всех изученных млекопитающих. Первоначально синтезируется полипептид из 247 аминокислотных остатков, который далее разделяется на сигнальный фрагмент (18 остатков), просегмент (110 остатков) и зрелую молекулу из 119 аминокислотных остатков. Подобно другим нейротрофным факторам N-конец исходного полипептида может расщепляться альтернативным образом с образованием более длинного пре-просегмента (но с идентичной зрелой молекулой) с другими функциональными свойствами. Зрелая молекула BDNF на 52% идентична фактору роста нервной ткани (NGF) на уровне аминокислот, в растворе существует в виде нековалентно связанного гомодимера и содержит 6 остатков цистеина, формирующих 3 дисульфидные связи между цепями. BDNF экспрессируется на фибробластах, астроцитах, нейронах различного фенотипа и локализации, мегакариocyтах/тромбоцитах, швановских клетках (в районах повреждения) и, возможно, на клетках гладкой мускулатуры. BDNF в плазме обнаруживается в количествах порядка пг/мл, в то время как в сыворотке он присутствует в количествах порядка нг/мл, разница обуславливается высвобождением BDNF при дегрануляции тромбоцитов и свертывании крови. Сохранение структуры BDNF у разных видов млекопитающих потенциально позволяет использовать данную тест-систему для разных видов. Известно по меньшей мере 2 типа рецепторов к BDNF, первые - низкоафинные рецепторы к NGF с молекулярной массой 75 кДальтон (LNGFR), вторые - высокоафинные рецепторы к тропомиозинкиназе-B с молекулярной массой 145 кДальтон (TrkB). LNGFR представляет собой трансмембранный гликопротеин 1 типа (N-конец вне клетки) из 399 аминокислотных остатков, который относят к суперсемейству рецепторов к TNF. Хотя все нейротрофные молекулы связываются с LNGFR примерно с одинаковой афинностью, значение этого связывания не определено. Известно, что сам LNGFR может усиливать передачу сигналов по определенным путям. Биологическое значение активации данных путей изучено плохо. Для BDNF LNGFR может выполнять роль ретроградного транспорта молекул в нейронах, участвовать в миграции Швановских клеток в область повреждения и/или модулировать активность TrkB на клетках, экспрессирующих одновременно LNGFR и TrkB. Второй рецептор для BDNF - TrkB - является высокоафинным рецептором и также обладает способностью связывать NT-3 и NT-4/5. Молекула TrkB человека представляет собой трансмембранный гликопротеин 1 типа (N-конец находится вне клетки), состоящий из 792 аминокислотных остатков и формирующий ряд внеклеточных доменов. В частности, 2 N-концевые области, богатые цистеином, домен, богатый лейцином и 2 мембранных проксимальных C2 -Ig-подобных домена. Человеческий и крысиный белки обнаруживают 90% идентичность аминокислотной последовательности. Проявление альтернативного сплайсинга обнаружено для гена

TrkB мыши, крысы и человека. В каждом случае образовывались несигнальные цитоплазматически усеченные варианты, что привело к предположению о том, что путем альтернативного сплайсинга клетки могут снижать активность нейротрофных молекул.

Считается, что для работы рецепторов TrkB требуется их гомодимеризация, в то время как имеются данные об образовании функциональных гетеродимеров молекул рецепторов TrkB и TrkC на клетках, экспрессирующих оба эти рецептора одновременно. К таким клеткам относят гранулярные нейроны мозжечка и клетки дентального ядра гиппокампа. Имеются данные об экспрессии TrkB на мотонейронах спинного мозга, пирамидальных клетках гиппокампа, почти всех клетках развивающегося мозга, а также на тимоцитах, что указывает на роль BDNF в лимфопоэзе.

Функциональная активность BDNF довольно велика. В период развития он участвует в дифференцировке нейронов, созревании, выживании и формировании синапсов. Во взрослом организме одна из наиболее значимых ролей BDNF - нейропротекция, возможно, защита нейронов головного мозга от ишемических атак и мотонейронов от гибели, индуцируемой удалением аксонов.

Данная тест-система основана на твердофазном ИФА с продолжительностью анализа 3,5 часа и разработана для определения человеческого BDNF в супернатанте культуры клеток, сыворотке и плазме. Тест-система содержит рекомбинантный человеческий BDNF вырабатываемый клетками Sf21 и антитела к рекомбинантному фактору. Данная тест-система количественно определяет рекомбинантный BDNF с большой точностью. Результаты, полученные при определении естественного человеческого BDNF хорошо коррелируют с результатами измерения стандартов данной тест-системы, что позволяет использовать набор для определения BDNF человека.

#### **ПРИНЦИП МЕТОДА**

Данная тест-система основана на количественном иммуноферментном анализе сэндвичевого типа. Моноклональные антитела к BDNF нанесены в ячейки микропланшета. Стандарты и образцы вносятся в ячейки и присутствующий в них BDNF связывается с антителами. Вторые антитела к BDNF, меченные ферментом, вносятся в ячейки. Последующая промывка удаляет несвязанный конъюгат антител с ферментом, после чего в ячейки вносится раствор ферментного субстрата, развитие окраски пропорционально количеству BDNF, связавшегося на первом шаге анализа. Цветную реакцию останавливают и считывают оптическую плотность ячеек.

#### **ОГРАНИЧЕНИЯ МЕТОДА**

- **ИСПОЛЬЗОВАТЬ ТОЛЬКО ДЛЯ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИХ ЦЕЛЕЙ. НЕ ИСПОЛЬЗОВАТЬ ДЛЯ ДИАГНОСТИЧЕСКИХ ПРОЦЕДУР**
- Данный Набор должен быть использован до истечения срока годности указанного на этикетке набора.
- Не смешивайте и не заменяйте реагенты с реагентами других лотов или других производителей.
- Если значения концентрации образцов выше, чем концентрация самого высокого стандарта, разведите образцы соответствующим буфером для разведения стандарта и повторите анализ.
- Любые изменения в буфере для разведения стандарта, выполнении процедуры, техники пипетирования, промывки, времени инкубации или температуре и сроке годности набора могут быть причиной изменений в связывании.
- Данный метод предполагает исключение влияния растворимых рецепторов, связывающих белков и других факторов, присутствующих в биологических образцах. До проверки всех факторов, однако, возможность влияния не может быть исключена.

#### **ТЕХНИЧЕСКИЕ ЗАМЕЧАНИЯ**

- При перемешивании белковых растворов избегайте вспенивания.
- Избегайте взаимной контаминации растворов, заменяйте наконечник на новый каждый раз при внесении стандарта другой концентрации, нового образца и нового реагента. Также для каждого реагента необходимо использовать отдельные резервуары (ванночки).
- Для получения корректных результатов закрывайте планшет адгезивной плёнкой каждый раз на время инкубации.
- При использовании автоматического вошера для промывок, установите после добавления буфера для промывок период замачивания 30 секунд, и/или вращение микропланшета на 180 градусов между шагами промывок может повысить точность результатов.

- Субстратный раствор должен оставаться бесцветным до момента добавления в ячейки. Храните в тёмном месте. Цвет Субстратного раствора во время реакции должен изменяться от бесцветного до голубого различной интенсивности.
- Стоп-раствор необходимо добавлять в ячейки в той же последовательности и с той же скоростью, что и Субстратный раствор. Цвет в ячейках будет меняться с голубого на жёлтый при добавлении стоп-реагента. Зеленый цвет в лунках свидетельствует о том, что стоп-раствор не был тщательно перемешан с раствором субстрата.

### РЕАГЕНТЫ, ВХОДЯЩИЕ В СОСТАВ НАБОРА

Хранить невскрытый набор при 2-8 °С. Не использовать после окончания срока годности.

Реагент	№ реагента	Кат.№ DBD00	Кат.№ SDBD00	Описание	Хранение открытых / восстановленных материалов
<b>BDNF микропланшет</b>	890388	1 планшет	6 планшетов	96-луночный полистироновый микропланшет (12 x 8 лунок), покрытый мышиными моноклональными антителами к BDNF	Верните оставшиеся стрипы в пакет с осушителем, закройте зип-застёжку и поместите в холодильник. Неиспользованные стрипы храните в пакете при 2-8°C 1 месяц*.
<b>BDNF стандарт</b>	890390	3 флакона	18 флаконов	Рекомбинантный человеческий BDNF в белковом буферном растворе с консервантами, лиофилизированный. 8 нг/флакон	Избавиться от основного раствора BDNF после 4 часов. Использовать свежий стандарт для каждого анализа.
<b>BDNF конъюгат</b>	890389	1 флакон	6 флаконов	11 мл/флакон мышиных моноклональных антител к BDNF, конъюгированных с пероксидазой хрена, с консервантами.	Можно хранить 1 месяц при температуре 2-8°C*
<b>Рабочий буфер RD1S</b>	895137	1 флакон	6 флаконов	11 мл/флакон белкового буферного раствора с консервантами.	
<b>Буфер для разведения стандарта RD5K</b>	895119	1 флакон	6 флаконов	21 мл/флакон белкового буферного раствора с консервантами. <i>Для образцов супернатантов клеточных культур.</i>	
<b>Буфер для разведения стандарта RD6P</b>	895118	1 флакон	6 флаконов	21 мл/флакон белкового буферного раствора с консервантами. <i>Для образцов сывороток/плазмы.</i>	
<b>Концентрат буфера для промывок</b>	895003	1 флакон	6 флаконов	25x мл/флакон солевого раствора с детергентом и консервантами	
<b>Цветной реагент А</b>	895000	1 флакон	6 флаконов	12 мл/флакон стабилизированного раствора перекиси водорода	
<b>Цветной реагент В</b>	895001	1 флакон	6 флаконов	12 мл/флакон стабилизированного	

				раствора хромогена (тетраметилбензидин)
<b>Стоп-раствор</b>	895032	1 флакон	6 флаконов	6 мл/флакон раствор 2 N серной кислоты
<b>Плёнки для заклеивания стрипов</b>	Без номера	4 полоски	24 полоски	Адгезивные пленки

\*Учитывая, что не заканчивается срок годности.

### НЕОБХОДИМЫЕ, НО НЕ ПОСТАВЛЯЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ И ОБОРУДОВАНИЕ

- Микропланшетный ридер с фильтром 450 нм с фильтром сравнения 540 или 570 нм.
- Калиброванные пипетки переменного объема с одноразовыми наконечниками.
- Деионизированная или дистиллированная вода.
- Впрыскивающая бутылка, ручное или автоматическое промывающее устройство
- Градуированный цилиндр на 500 мл.
- Горизонтальный орбитальный шейкер со скоростью 500 ± 50 об/мин.
- **Полипропиленовые** тестовые пробирки для разбавления стандартов и образцов.
- Контроли BDNF человека (опционально; могут быть заказаны отдельно в R&D Systems).

### ПРЕДОСТЕРЕЖЕНИЯ

Стоп-раствор содержит раствор кислоты. Защищайте глаза, руки, лицо и надевайте защитную одежду при работе с данным набором.

### СБОР И ХРАНЕНИЕ ОБРАЗЦОВ

#### Образцы супернатантов клеточных культур

Центрифугируйте образцы для удаления частиц и анализируйте немедленно или приготовьте аликвоты и храните при -20°C. Избегайте повторного замораживания-размораживания.

#### Образцы сыворотки

Если используете сепарационные пробирки, позвольте крови свернуться в течение 30 минут при комнатной температуре. Центрифугируйте 15 минут при 1000 g. Анализируйте сыворотку сразу или приготовьте аликвоты и храните при -20°C. Избегайте повторного замораживания-размораживания образцов.

#### Образцы плазмы

Соберите плазму на льду, используя для сбора образцов в качестве антикоагулянта ЭДТА или гепарин. Отделите плазму центрифугированием в течение 15 минут при 1000 g. Рекомендуется дополнительно центрифугировать образцы отделенной плазмы при 10,000 x g в течение 10 минут при 2 - 8° С, для полного удаления тромбоцитов. Анализируйте плазму сразу или приготовьте аликвоты и храните при -20°C. Избегайте повторного замораживания-размораживания.

**BDNF присутствует в гранулах тромбоцитов и при их активации происходит его релиз. Таким образом, для измерения уровня циркулирующего BDNF, для измерений должна быть собрана свободная от тромбоцитов плазма. Следует отметить, что многие протоколы подготовки плазмы, включая протоколы, рекомендованные Национальным Комитетом по Клиническим Лабораторным Стандартам (NCCLS), приводят к неполному удалению тромбоцитов из крови. Это является причиной переменных и не воспроизводимых результатов, получаемых при анализе факторов, содержащихся в тромбоцитах и высвобождающихся при их активации.**

### ПРИГОТОВЛЕНИЕ ОБРАЗЦОВ

#### Используйте полипропиленовые пробирки.

Образцы сыворотки должны быть разведены не менее, чем в 20 раз буфером для разведения стандарта RD6P перед тестированием. Например, 10 мкл образца + 190 мкл буфера для разведения стандарта RD6P.

## ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

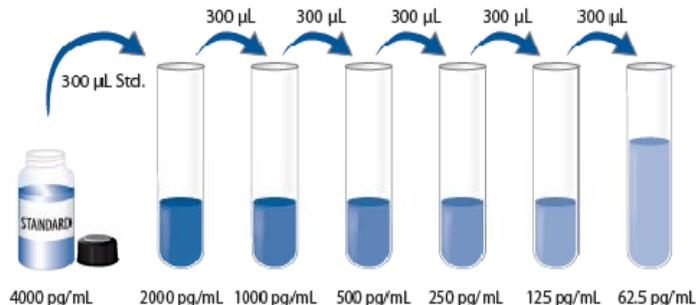
Все реагенты должны достичь комнатной температуры (18-25°) перед использованием.

**Разведение буфера для промывок** - нагрейте концентрат буфера для промывок до комнатной температуры и перемешайте, убедившись, что кристаллы соли, выпавшие в осадок, полностью растворились. Разведите 20 мл концентрата буфера для промывок дистиллированной или деионизированной водой для приготовления до 500 мл готового буфера для промывок.

**Субстратный раствор** - Смешайте равные доли Цветных реагентов А и В в подходящей емкости за 15 минут до использования. Защищайте от света. Для одной ячейки необходимо 200 мкл смеси.

**BDNF стандарт** - Растворите BDNF стандарт в 2.0 мл Растворителя калибраторов RD5K (для образцов культуры клеток) или Растворителя калибраторов RD6P (для образцов сыворотки/плазмы). В результате растворения будет получен сток-раствор с концентрацией 4,000 пг/мл. Оставьте на 15 минут для полного растворения, затем перед дальнейшим разведением перемешайте осторожно, покачиванием.

**Используйте полипропиленовые пробирки.** Добавьте по 300 мкл соответствующего буфера для разведения стандарта в каждую из оставшихся пробирок. Используйте сток-раствор для приготовления серии разведений (см. рисунок), тщательно перемешивая полученные стандарты между шагами разведения. Стандарт 4000 пг/мл используйте в качестве самого высокого стандарта и соответствующий буфер для разведения стандарта в качестве нулевого стандарта (0 пг/мл).



## ПРОЦЕДУРА АНАЛИЗА

Все реагенты и образцы должны достичь комнатной температуры (18-25°) перед использованием. Рекомендуется все образцы анализировать в дублях.

1. Приготовьте все реагенты, рабочие разведения стандартов и образцы как это описано в предыдущем разделе.
  2. Достаньте требуемое для проведения анализа число стрипов. Неиспользованные стрипы храните в пакете с осушителем при 2-8°C. Поместите требуемое количество стрипов в держатель. Верните оставшиеся стрипы в пакет с осушителем и поместите в холодильник.
  3. Добавьте по 100 мкл Рабочего буфера RD1S во все ячейки.
  4. Добавьте по 50 мкл каждого стандарта, контроля или образца\* в соответствующие ячейки. Закройте стрипы адгезивной плёнкой. Инкубируйте 2 часа при комнатной температуре.
- Примечание: перейти к следующему шагу, не проводить промывку.**
5. Добавьте по 100 мкл BDNF конъюгата в каждую лунку. Закройте стрипы новой адгезивной плёнкой. Инкубируйте 1 час при комнатной температуре.
  6. Полностью удалите содержимое ячеек и промойте ячейки 3 раза. Промывайте, заполняя каждую ячейку 400 мкл буфера для промывок, используя сжимаемую бутылку, многоканальную пипетку ручной диспенсер или устройство для автоматической промывки (вошер). Полное удаление жидкости в каждом цикле промывки принципиально для хорошего качества анализа. После последнего цикла промывки удалите остатки буфера для промывок аспирацией или декантированием. Переверните и подсушите планшет на чистой фильтровальной бумаге.

7. Внесите по 200 мкл Субстратного раствора во все ячейки. Инкубируйте 30 минут при комнатной температуре. **Защищайте планшет от воздействия света.**
8. Добавьте по 50 мкл стоп-раствора во все ячейки. Если цвет в ячейках зеленый или, если изменение цвета не происходит однородно, постучите осторожно по держателю стрипов для перемешивания реагентов.
9. Определите оптическую плотность ячеек в течение 30 минут при 450 нм. Используйте, если это возможно, длину волны сравнения 540 или 570 нм. Это необходимо для устранения оптических дефектов планшета. Если измерения с корректировкой невозможны, вычитите значения, полученные для лунок при длине волны 540 нм или 570 нм из значений, полученных при 450 нм. Считывание только при 450 нм может быть выше и менее точным по сравнению с двухволновым считыванием.

\*Образцы сыворотки необходимо развести перед использованием.

## РАСЧЁТ РЕЗУЛЬТАТОВ

Рассчитайте среднее значение поглощения для каждого стандарта, контроля и образца и вычитите среднее значение О.П. нулевого стандарта.

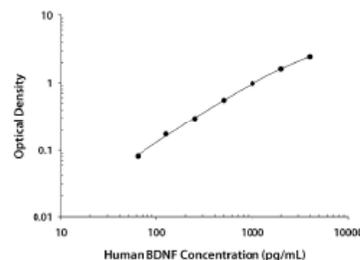
Используя графическую бумагу, отметьте точки рассчитанных значений поглощения стандартов на вертикальную ось Y, а соответствующие концентрации на горизонтальную ось X. Проведите оптимальную кривую. Оптимально может использоваться график в координатах log/log, для log трансформации может быть использован регрессионный анализ.

Для определения концентрации BDNF каждого образца сначала найдите соответствующее значение О.П. на оси y и проведите горизонтальную линию до пересечения с калибровочной кривой. Затем из точки пересечения проведите вертикальную линию до пересечения с осью x. Значение на оси X в точке пересечения будет соответствовать концентрации BDNF в образце. Так как образцы разводили, то значение найденной концентрации необходимо умножить на коэффициент разведения.

## ТИПИЧНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ

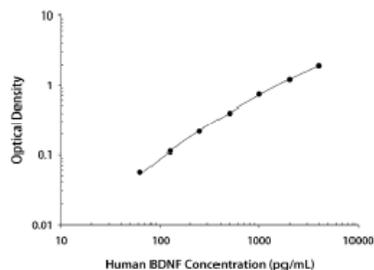
Пример результатов измерения стандартов BDNF. Эти данные приводятся только в качестве примера. Стандартная кривая должна строиться для каждой серии анализов:

CALIBRATOR DILUENT RD5K



пг/мл	ОП	Среднее ОП	Скорректированное
0	0.033	0.034	-
	0.034		
62.5	0.114	0.115	0.081
	0.116		
125	0.188	0.206	0.172
	0.225		
250	0.323	0.328	0.294
	0.332		
500	0.578	0.586	0.552
	0.594		
1000	1.024	1.017	0.983
	1.010		
2000	1.624	1.636	1.602
	1.647		
4000	2.457	2.462	2.428
	2.466		

## CALIBRATOR DILUENT RD6P



пг/мл	ОП	Среднее ОП	Скорректированное
0	0.030	0.030	-
62.5	0.087	0.086	0.056
125	0.140	0.140	0.110
250	0.238	0.244	0.214
500	0.434	0.430	0.400
1000	0.769	0.770	0.740
2000	1.242	1.238	1.208
4000	1.938	1.961	1.931

## ВОСПРОИЗВОДИМОСТЬ

### Воспроизводимость внутри одной серии

Воспроизводимость внутри одной серии определялась путем 20 определений каждого из 3 образцов с известной концентрацией на одном планшете.

### Воспроизводимость между сериями

Воспроизводимость между сериями исследований определялась анализом трех образцов сыворотки с известной концентрацией 40 раз в независимых сериях анализа.

### ОПРЕДЕЛЕНИЕ В СУПЕРНАТАНТЕ КЛЕТОЧНОЙ КУЛЬТУРЫ

#### Внутри серии:

Образец	Образец 1	Образец 2	Образец 3
n	20	20	20
Среднее значение, (пг/мл)	334	825	1339
Стандартное отклонение	15.6	28.3	56.5
Коэффициент вариации CV, (%)	4.7	3.4	4.2

#### Между сериями:

Образец	Образец 1	Образец 2	Образец 3
n	40	40	40
Среднее значение, (пг/мл)	358	905	1517
Стандартное отклонение	36.8	86.8	121.6
Коэффициент вариации CV, (%)	10.3	9.6	8.1

### ОПРЕДЕЛЕНИЕ В СЫВОРОТКЕ/ПЛАЗМЕ

#### Внутри серии:

Образец	Образец 1	Образец 2	Образец 3
n	20	20	20
Среднее значение, (пг/мл)	107	1258	2175
Стандартное отклонение	24.0	48.2	135.7
Коэффициент вариации CV, (%)	5.0	3.8	6.2

#### Между сериями:

Образец	Образец 1	Образец 2	Образец 3
n	40	40	40
Среднее значение, (пг/мл)	528	1338	2287
Стандартное отклонение	59.7	102.3	186.0
Коэффициент вариации CV, (%)	11.3	7.6	8.1

## ИЗВЛЕЧЕНИЕ

Извлечение BDNF, добавленного в образцы с различными концентрациями белка, охватывающими весь измеряемый диапазон, было определено для различных матриц.

Тип образца	Среднее извлечения, %	Диапазон
Культуральная среда (n=5)	96	83-105%
Сыворотка* (n=5)	100	85-116%
Цитратная плазма (n=5)	99	89-115%
Гепариновая плазма (n=5)	93	81-119%
ЭДТА плазма (n=5)	96	89-115%

\*Образцы были разбавлены перед анализом.

## ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ

Минимально определяемая концентрация (MDD) или чувствительность метода составила менее 20 пг/мл.

Чувствительность была рассчитана добавлением 2 стандартных отклонений к среднему значению оптической плотности 20 измеренных реплик стандарта 0 нг/мл и расчетом соответствующей концентрации.

## ЛИНЕЙНОСТЬ

Образцы с высоким содержанием, или насыщенные до высокой концентрации BDNF были серийно разведены буфером для разведения стандарта и проанализированы.

		Культуральная среда (n=5)	Сыворотка* (n=5)	Гепариновая плазма без тромбоцитов (n=5)	ЭДТА плазма без тромбоцитов (n=5)
1:2	Среднее ожидаемое, %	101	103	103	99
	Диапазон, %	100-102	97-110	95-109	92-105
1:4	Среднее ожидаемое, %	101	104	105	99
	Диапазон, %	98-105	92-111	90-112	84-112
1:8	Среднее ожидаемое, %	99	101	103	100
	Диапазон, %	94-101	90-110	87-110	85-112
1:16	Среднее ожидаемое, %	100	104	108	105
	Диапазон, %	96-103	97-115	86-118	88-119

		Цитратная плазма без тромбоцитов (n=5)
1:2	Среднее ожидаемое, %	97
	Диапазон, %	89-105
1:4	Среднее ожидаемое, %	97
	Диапазон, %	85-108
1:8	Среднее ожидаемое, %	97
	Диапазон, %	83-106
1:16	Среднее ожидаемое, %	101
	Диапазон, %	86-111

\* Образцы сыворотки перед анализом были разведены

## КАЛИБРОВКА

Данный иммуноферментный метод был прокалиброван по высокочистому препарату Sf-27 рекомбинантного человеческого BDNF.

## ОЖИДАЕМЫЕ ЗНАЧЕНИЯ

Сыворотка/плазма- Данным методом был протестированы образцы сыворотки и плазмы.

Тип образца	Среднее (пг/мл)	Диапазон (пг/мл)	% Обнаружения
Сыворотка (n=33)*	27.793	6186-42.580	100
Гепариновая плазма (n=33)	196	ND-528	55
Цитратная плазма (n=33)	401	ND-1838	94
ЭДТА плазма (n=33)	428	ND-4137	56

\* Образцы были разведены. ND - не обнаружено

**Супернатанты клеточных культур** – Клетки периферической крови человека ( $1 \times 10^6$  клеток/мл) растили в среде RPMI, дополненной 10% FCS, 50 мкМ β-меркаптоэтанолом, 2 мМ L-глутамином, 100 Ед/мл пенициллина и 100 мкг/мл стрептомицин сульфата. Клетки растили не стимулированными или стимулировали 10 мкг/мл РНА. Аликвоты супернатантов клеточных культур были протестированы с помощью данного метода для определения уровня нативного BDNF.

Условия	день 1 (пг/мл)	день 5 (пг/мл)
Без стимуляции	132	109
Стимулированные	160	104

#### **СПЕЦИФИЧНОСТЬ**

Данный метод распознаёт рекомбинантную и нативную формы человеческого BDNF. Факторы, перечисленные ниже, были приготовлены в концентрации 50 нг/мл в буферах для разведения стандарта и были проанализированы на перекрестную реактивность. Приготовленные нижеперечисленные факторы в концентрации 50 нг/мл в среднем диапазоне контролей были проанализированы на интерференцию. Не обнаружено значительной перекрестной реактивности, за исключением BDNF -подобных белков, как указано. Интерференция не была обнаружена ни для одного из протестированных веществ.

#### **Рекомбинантные, человека:**

CNTF  
Pro-BDNF (aa19-128)  
β-NGF  
NGF R  
NT-3  
NT-4  
TrkC

#### **Рекомбинантные, мышинные:**

TrkC  
TrkB  
Pro-BDNF (aa19-130)  
β-NGF  
NGF R

#### **Рекомбинантные, крысиные:**

β-NGF



#### **ОФИЦИАЛЬНЫЙ ДИСТРИБЬЮТОР**

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

