

## НАБОР ИФА

# ДЛЯ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ ЧЕЛОВЕЧЕСКОГО ФАКТОРА РОСТА СОСУДИСТОГО ЭНДОТЕЛИЯ (VEGF)

### KHG0112/KHG0111, Human VEGF

Каталог. № : KHG0112, KHG0111 Методика от 02-02-2010  
Количество : 96, 192  
Производитель: *Invitrogen, (США)*



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 использования в исследовательских целях  
Не для использования в диагностических процедурах**

#### НАЗНАЧЕНИЕ

Фактор роста сосудистого эндотелия человека (Hu VEGF) ELISA предназначен для количественного определения человеческого VEGF *in vitro* в человеческой сыворотке, плазме, буферизованном растворе или среде культуры клеток.

В этом анализе определяются как естественная, так и рекомбинантная форма человеческого VEGF-165.

Использовать только для исследовательских целей.

**Внимательно прочитайте инструкцию перед использованием.**

#### КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ И ОБЪЯСНЕНИЕ

Фактор роста сосудистого эндотелия (VEGF), первоначально названный фактор проницаемости сосудов (VPF), является важным регулятором ангиогенеза и васкулогенеза. Ангиогенез происходит при нормальных процессах, относящихся к репродуктивному циклу женщин и при таких патологических процессах, как рост и метастазирование опухоли, диабетическая ретинопатия, ревматоидный артрит, после ишемии ткани. Васкулогенез заключается в образовании кровеносных сосудов, для него в процессе дифференцировки эндотелиальных клеток из морфологически недифференцированных мезенхимных клеток. Процесс васкулогенеза ограничен эмбриональным периодом, тогда как ангиогенез происходит на протяжении всей жизни, тогда, когда появляется необходимость в дополнительной васкуляризации.

В результате альтернативного сплайсинга мРНК VEGF синтезируются 5 изоформ, по 121, 145, 165, 189 и 206 аминокислот, из которых изоформа в 165 а.к. является наиболее частой. Активными формами данной изоформы являются гомодимеры, связанные дисульфидными мостиками. VEGF-121 отличается от более крупных изоформ VEGF тем, что только эта изоформа не связывается с гепарином. Белок, содержащий 165 аминокислотных остатков, это гомодимер м.м. 46 кДа, который продуцируется множеством клеток различных типов, включая клетки различных опухолей, макрофаги и т.д. Известны два высокоспецифичных рецептора для VEGF, fms-подобная тирозинкиназа (Flt-1) и киназа печени плода (Flk-1). Считается, что обе тирозинкиназы экспрессируются только на эндотелиальных клетках. Связывание VEGF со своим рецептором активирует сигнальные каскады, приводящий к активации митоген-активируемой протеинкиназы (МАРК-киназы, МАРК) и фосфорилированию тирозина фосфорилазы Сy1 (PLC $\gamma$  1), что, похоже, приводит к увеличению внутриклеточного содержания инозитол 1,4,5-трифосфата и кальция. Увеличение уровня кальция активирует NO-синтазу (NOS) до получения NO. Эта активность NOS необходима VEGF для стимуляции ангиогенеза и увеличения проницаемости сосудов. Экспрессия VEGF и его рецепторов происходит в процессе ангиогенеза и васкулогенеза.

#### ПРИНЦИП МЕТОДА

Данный тест *Invitrogen* человеческого VEGF основан на «сэндвич» методе твердофазного иммуоферментного анализа. Микропланшет покрывается антителами против человеческого VEGF. В ходе реакции в лунки планшета добавляются стандарты, контроли и неизвестные образцы.

Во время первой инкубации человеческий VEGF-антиген связывается произвольно с иммобилизованными в лунках антителами. После промывки добавляются биотинилированные моноклональные антитела против человеческого VEGF, которые во

второй инкубации связываются с иммобилизованным человеческим VEGF, связавшимся в первой инкубации.

После удаления избытка вторичных антител добавляется стрептавидин-пероксидаза, которая связывается с биотинилированными антителами с формированием сэндвич-комплекса из 4-х реагентов. После третьей инкубации и промывки удаляется несвязавшийся фермент, после чего добавляется субстратный раствор, который взаимодействует с ферментом с образованием цветного комплекса. Интенсивность окраски раствора прямо пропорциональна концентрации человеческого VEGF, присутствующего в образце.

#### РЕАГЕНТЫ, ВХОДЯЩИЕ В СОСТАВ НАБОРА

**Примечание:** Храните все реагенты при температуре 2-8°C

Реагент	Набор 96 тестов	Набор 192 теста
Стандарт человеческого VEGF: рекомбинантный человеческий VEGF-165, экспрессированный в клетках Sf 21 насекомых. На этикетке флакона указано количество и объём раствора для разведения	2 флакона	4 флакона
Буфер для разведения стандартов. Содержит 0.1% азида натрия; 25 мл во флаконе	1 флакон	2 флакона
Инкубационный буфер, 12 мл во флаконе	1 флакон	1 флакон
Микропланшет, покрытый антителами к человеческому VEGF, 96 ячеек в одном планшете	1 планшет	2 планшета
Человеческий VEGF биотиновый конъюгат. (биотинилированные антитела к человеческому VEGF), Содержит 0.1% азида натрия; 11 мл во флаконе	1 флакон	2 флакона
Конъюгат Стрептавидин-пероксидазы (HRP), концентрат (100x). Содержит 3,3 мМ тимол; 0,125 мл во флаконе.	1 флакон	2 флакона
Буфер для разведения конъюгата стрептавидин-пероксидазы (HRP). Содержит 3,3 мМ тимола; 25 мл во флаконе.	1 флакон	1 флакон
Промывающий раствор, концентрат (25x). 100 мл во флаконе.	1 флакон	1 флакон
Хромоген, стабилизированный раствор (ТМБ, тетраметилбензидин). 25 мл во флаконе	1 флакон	1 флакон
Стоп-раствор. 25 мл во флаконе	1 флакон	1 флакон
Плэнки для заклеивания стрипов	3	6

#### НЕОБХОДИМЫЕ, НО НЕ ПОСТАВЛЯЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

1. Микропланшетный ридер с возможностью измерений при длине волны 450 нм или близкой к ней.
2. Калиброванные пипетки переменного объема с одноразовыми наконечниками.
3. Дистиллированная или деионизированная вода
4. Ручное или автоматическое промывающее устройство
5. Миллиметровая бумага или программное обеспечение для обработки результатов (линейная, логарифмическая и полулогарифмическая аппроксимация)
6. Стекланные или полипропиленовые пробирки для разбавления стандартов
7. Фильтровальная бумага
8. Калиброванные стаканы и градуированные цилиндры разных размеров.

#### ПРОЦЕДУРНЫЕ ЗАМЕЧАНИЯ / ЛАБОРАТОРНЫЙ КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

1. Храните все компоненты набора при 2-8°C. Не позволяйте реагентам находиться при комнатной температуре продолжительное время. Все реагенты должны достичь комнатной температуры перед использованием.
2. **Не открывайте пакет со стрипами сразу, достав его из холодильника: прежде чем вы откроете пакет со стрипами, он должен нагреться до комнатной температуры.** Выберите необходимое для анализа число стрипов. Оставшиеся стрипы немедленно верните в пакет, затем закройте пакет и поместите его в холодильник при температуре 2-8 °C для сохранения качества набора.
3. Образцы должны быть собраны в апиогенные, свободные от эндотоксинов пробирки.

4. Если образцы не анализируются сразу, их необходимо заморозить. Избегайте повторных циклов замораживания-оттаивания образцов. Перед анализом полностью разморозьте и тщательно перемешайте образцы.
5. Избегайте использования гемолизированных или липемичных образцов. Если образцы содержат большое количество частиц, центрифугируйте их или отфильтруйте до анализа.
6. Рекомендуется все стандарты, контроли и образцы анализировать в дубликатах.
7. Образцы, с концентрацией >1500 пг/мл человеческого VEGF, необходимо анализировать, предварительно разведя образцы *буфером для разведения стандартов*.
8. Для воспроизводимых результатов очень важно, чтобы время реакции во всех ячейках было одинаковым. Следовательно, внесение реагентов должно проводиться в одинаковой последовательности и с одинаковой скоростью от ячейки к ячейке.
9. Реагенты должны быть всегда закрыты, когда они не используются.
10. **Не смешивайте разные лоты и не заменяйте реагенты реагентами из разных лотов.**
11. Не используйте реагенты с истекшим сроком хранения.
12. Считайте оптическую плотность не позднее 2-х часов после завершения анализа.
13. Внутренний контроль необходимо ставить в каждой серии анализов. Если контроль оказался за пределами допустимого диапазона значений, правильность анализа сомнительна.
14. Полностью удаляйте промывочный буфер из ячеек аспирацией или встряхиванием планшета на фильтровальную бумагу. **Никогда** не допускайте попадания фильтровальной бумаги в ячейки.
15. Избегайте контакта раствора хромогена с прямым солнечным светом, т.к. он чувствителен к свету, и не допускайте его контакта с металлами, иначе раствор хромогена может окраситься и стать непригодным для анализа.

#### БЕЗОПАСНОСТЬ

Все компоненты крови и биологические материалы могут быть потенциально опасны. Так как не существует метода, дающего полную гарантию отсутствия каких-либо инфекционных агентов, то с данными реагентами надо обращаться как с потенциально инфекционно опасным материалом.

#### РЕКОМЕНДАЦИИ ПО ПРОМЫВКЕ

**Неполная промывка негативно влияет на точность результатов.** Все операции промывки должны выполняться Промывающим раствором.

Рекомендуемый метод для ручной промывки:

Полностью удалите жидкость из ячеек, перевернув планшет или аспирировав жидкость наконечниками пипетки. Постарайтесь не поцарапать ячейки.

Добавьте по крайней мере 0,4 мл разбавленного Промывочного раствора в каждую ячейку. Замочите 15-30 секунд, затем удалите жидкость. Повторите промывку столько раз, сколько указано в **Протоколе анализа**. После этого удалите из ячеек жидкость и высушите каждую ячейку, перевернув планшет на фильтровальную бумагу.

При использовании автоматической промывки, тщательно следуйте инструкции по работе с прибором. Если позволяет Ваш автоматический промыватель в промывочном цикле запрограммируйте 30-секундные циклы для замачивания.

#### ПРИГОТОВЛЕНИЕ И ХРАНЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

##### А. Растворение и разведение Стандарта человеческого VEGF

Этот стандарт прокалиброван по высокочистому препарату человеческого VEGF-165, экспрессирующемуся рекомбинантными клетками Sf.

**Замечание:** Для разведения стандартов должны использоваться стеклянные или полипропиленовые пробирки.

1. Растворите лиофилизированный стандарт до концентрации 10,000 пг/мл *буфером для разведения стандартов* (точный объем буфера указан на этикетке флакона). Перемешайте осторожно покачиванием или вращением и оставьте на 10 минут для полного растворения. Используйте растворенный стандарт не позднее 1 часа после растворения.
2. Добавьте 0.090 мл Стандарта в пробирку, содержащую 0.510 мл *буфера для разведения стандартов*. Пометьте эту пробирку «1500 пг/мл человеческого VEGF». Перемешайте.
3. Добавьте 0.300 мл *буфера для разведения стандартов* в каждую из 6 пробирок, помеченных 750, 375, 188, 93.8, 46.9 и 23.4 пг/мл человеческого VEGF.
4. Выполните серийные разведения стандартов согласно таблице, тщательно перемешивая полученные стандарты между шагами разведения:

#### В. Разведение Стандарта человеческого VEGF

Стандарт	Добавить:	В:
1500 пг/мл	Приготовьте, как описано в шаге 2.	
750 пг/мл	0,300 мл стандарта 1500 пг/мл	0,300 мл буфера для раствора
375 пг/мл	0,300 мл стандарта 750 пг/мл	0,300 мл буфера для раствора
188 пг/мл	0,300 мл стандарта 375 пг/мл	0,300 мл буфера для раствора
93.8 пг/мл	0,300 мл стандарта 188 пг/мл	0,300 мл буфера для раствора
46.9 пг/мл	0,300 мл стандарта 93.8 пг/мл	0,300 мл буфера для раствора
23.4 пг/мл	0,300 мл стандарта 46.9 пг/мл	0,300 мл буфера для раствора
0 пг/мл	0,300 мл буфера для разведения стандарта	Пустая пробирка

Остаток исходного стандарта и его разведений, неиспользованные после проведения анализа необходимо выбросить. Хранение разбавленных стандартов не допускается. Верните Разбавляющий буфер для стандарта в холодильник.

#### С. Хранение и рабочее разведение конъюгата *Стрептавидин-пероксидазы*

**Замечание:** Конъюгат *стрептавидин-пероксидаза* (HRP), концентрат (100x), содержит 50% глицерола, поэтому раствор обладает повышенной вязкостью. Для точного разбавления позволяйте концентрату конъюгата достичь комнатной температуры. Перемешайте осторожно. Пипетируйте концентрат медленно. Удалите излишки раствора концентрата с наконечника пипетки, осторожно стирая их чистой фильтровальной бумагой.

1. Разбавьте 10 мкл 100x концентрата 1 мл *буфера для разведения конъюгата стрептавидин-пероксидазы* для каждого 8-луночного стрипа. Пометьте приготовленный раствор как Рабочий раствор Стрептавидин-HRP Конъюгата.

Пример:

Количество 8-луночных стрипов	Объем стрептавидин-HRP концентрата	Объем разбавителя
2	20 мкл	2 мл
4	40 мкл	4 мл
6	60 мкл	6 мл
8	80 мкл	8 мл
10	100 мкл	10 мл
12	120 мкл	12 мл

2. Верните неиспользованный концентрат стрептавидин-HRP конъюгата в холодильник.

#### Д. Разведение промывочного раствора

Позвольте концентрату промывочного раствора достичь комнатной температуры и перемешайте, убедившись, что кристаллы соли, выпавшие в осадок, полностью растворились. Разбавьте 1 часть 25x концентрата промывочного раствора 24 частями дистиллированной воды (например, 50 мл концентрата можно развести до 1,25 л дистиллированной водой, 100 мл концентрата можно развести до 2.5 л дистиллированной водой). Пометьте приготовленный раствор как Рабочий раствор промывочного раствора.

Храните концентрат промывочного раствора в холодильнике. Рабочий раствор промывочного раствора должен быть использован в течение 14 дней.

#### ПРОЦЕДУРА АНАЛИЗА

**Перед выполнением анализа внимательно ознакомьтесь с разделом «ЗАМЕЧАНИЯ/ЛАБОРАТОРНЫЙ КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА»**

Все реагенты и образцы должны достичь комнатной температуры (18-25°) перед использованием. Все реагенты необходимо тщательно и осторожно перемешивать.

**Замечание:** Калибровочная кривая должна строиться при каждой постановке анализа.

#### Методика

1. 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 и пакет поместите в холодильник.
2. Внесите по 50 мкл *инкубационного буфера* во все ячейки, кроме ячейки, предназначенной для хромогенного бланка.
3. Внесите по 100 мкл *буфера для разведения стандарта* в ячейки «Стандарт 0». Ячейка для хромогенного Бланка должна оставаться пустой.

4. Добавьте по 100 мкл каждого стандарта в соответствующие ячейки (смотрите раздел «ПРИГОТОВЛЕНИЕ И ХРАНЕНИЕ РЕАГЕНТОВ», п. В). В ячейки, предназначенные для исследуемых образцов и контролей внесите по 50 мкл *буфера для разведения стандарта*, а затем по 50 мкл каждого образца или стандарта. Аккуратно постучите по планшету для перемешивания.
5. Закройте планшет плёнкой и инкубируйте **2 часа при комнатной температуре**.
6. Полностью удалите содержимое ячеек. Промойте ячейки 4 раза, как это указано в разделе «РЕКОМЕНДАЦИИ ПО ПРОМЫВКЕ».
7. Добавьте по 100 мкл биотинилированных антител к человеческого VEGF (*Биотиновый Конъюгат*) во все ячейки, за исключением хромогенного Бланка. Постучите осторожно по планшету для перемешивания.
8. Закройте планшет плёнкой и инкубируйте **1 час при комнатной температуре**.
9. Полностью удалите содержимое ячеек. Промойте ячейки 4 раза, как это указано в разделе «РЕКОМЕНДАЦИИ ПО ПРОМЫВКЕ».
10. Добавьте 100 мкл рабочего раствора конъюгата стрептавидин-пероксидазы в каждую лунку, за исключением хромогенного Бланка. (Смотрите раздел «ПРИГОТОВЛЕНИЕ И ХРАНЕНИЕ РЕАГЕНТОВ», п. С)
11. Закройте планшет плёнкой и инкубируйте **30 минут при комнатной температуре**.
12. Полностью удалите содержимое ячеек. Промойте ячейки 4 раза, как это указано в разделе «РЕКОМЕНДАЦИИ ПО ПРОМЫВКЕ».
13. Внесите по 100 мкл *Раствора Хромогена* во все ячейки. Цвет раствора должен измениться на голубой.
14. Инкубируйте **30 минут при комнатной температуре в темноте**.  
**Замечание: Не накрывайте микропланшет алюминиевой фольгой или металлизированной магнитной плёнкой.** Время инкубации с хромогенным субстратом определяется типом используемого микропланшетного ридера. Многие ридеры способны считать оптическую плотность только до 2,0 Ед оптической плотности. Для подобных фотометров реакция должна быть остановлена до достижения ярко окрашенными лунками предела измерения инструмента. Определяйте оптическую плотность ячеек при 450 нм только после внесения стоп-реагента. Если у ридера верхний предел считывания 2,0 Ед оптической плотности, остановите реакцию через 20-25 минут инкубации с субстратным раствором.
15. Добавьте по 100 мкл стоп-раствора во все ячейки. Постучите осторожно по держателю стрипов для перемешивания реагентов. Цвет раствора в ячейках должен измениться с голубого на жёлтый.
16. Определите оптическую плотность ячеек при 450 нм против «хромогенного бланка», представляющего собой смесь 100 мкл Хромогенного раствора ТМБ и 100 мкл стоп-раствора. Определите оптическую плотность не позднее 2-х часов после внесения стоп-раствора.
17. Посчитайте результаты. Для этого рассчитайте среднее значение поглощения для каждого стандарта, контроля и образца. (Оптимальным будет вычитание фоновой абсорбции из результатов оптической плотности всех стандартов, контролей и образцов до построения графика). Используя графическую бумагу, отметьте точки считанных значений поглощения стандартов на вертикальную ось Y, а соответствующие концентрации на горизонтальную ось X. Проведите оптимальную кривую по среднему из двух точек. Альтернативно, при использовании автоматизированного расчёта оптимально может использоваться четырёх параметрическая аппроксимация.
18. Определите концентрации человеческого VEGF в контролях и образцах из стандартной кривой указанной в шаге 17. **Умножьте полученные значения на 2, для коррекции разведения 1:2, проведенного на шаге 4.** Все образцы со значениями, большими, чем у самого высокого стандарта (1500

стандартов и проанализированы еще раз. При этом умножьте значение найденной концентрации на коэффициент разведения.

## ТИПИЧНЫЕ ДАННЫЕ

Пример результатов измерения стандартов человеческого VEGF в диапазоне 0-1500 пг/мл:

Стандарт	ОП (450 нм)
0	0.060 0.063
23.4	0.105 0.110
46.9	0.147 0.153
93.8	0.251 0.257
188	0.480 0.472
375	0.879 0.847
750	1.633 1.608
1500	2.617 2.634

## ОГРАНИЧЕНИЯ МЕТОДА

Не экстраполируйте результаты выше значения 1500 пг/мл, т.к. зависимость концентрация/оптическая плотность нелинейна в этом диапазоне, и точности измерения трудно достичь. В этом случае все образцы со значениями > 1500 пг/мл, должны быть разведены *буфером для разведения стандартов* и проанализированы ещё раз, а результат необходимо умножить на коэффициент разведения. Влияние различных лекарств, аберрантных (отклоняющихся от нормы) сывороток (гемолиз, гиперлипидемия, желтуха и т.д.) и использование других биологических образцов не до конца исследовано. Степень деградации нативного человеческого VEGF в различных матриксах не исследована. В литературе, посвящённой иммуноанализу, часто содержатся ссылки на помехи сигнала в некоторых сыворотках, приписываемые влиянию гетерофильных антител. Хотя нами и не были замечены такие образцы, нельзя исключать возможность подобного воздействия.

**Этот набор предназначен только для исследовательских целей. Набор не для терапевтического или диагностического использования.**

## ХАРАКТЕРИСТИКИ АНАЛИЗА

### Чувствительность анализа

Минимально определяемая концентрация человеческого VEGF составляет < 5 пг/мл. Это было вычислено как сумма 2х стандартных отклонений и среднего значения ОП, полученного для стандарта 0 пг/мл в результате 30-ти определений.

## ВОСПРОИЗВОДИМОСТЬ

### 1. Воспроизводимость внутри одной серии

Воспроизводимость внутри одной серии определялась путем 14 определений каждого из 3 сывороточных образцов.

	Образец 1	Образец 2	Образец 3
Среднее значение, (пг/мл)	87.4	345	938
Стандартное отклонение, (пг/мл)	4.8	12.7	45.8
Коэффициент вариации, (%)	5.5	3.7	4.9

### 2. Воспроизводимость между сериями

Воспроизводимость между сериями исследований определялась анализом трех образцов сыворотки в 42 независимых сериях анализа.

	Образец 1	Образец 2	Образец 3
Среднее значение, (пг/мл)	88.6	319	984
Стандартное отклонение, (пг/мл)	8.2	27.1	64.4
Коэффициент вариации, (%)	9.3	8.5	6.5

## ЛИНЕЙНОСТЬ РАЗВЕДЕНИЯ

Набор человеческих сывороток и среда культуры клеток, содержащая 10% фетальную телячью сыворотку, были обогащены человеческого VEGF и серийно разведены *буфером для разведения стандартов* в пределах диапазона измерения. Для полученной линейной регрессии коэффициент корреляции измеренной и ожидаемой концентрации составил 0,99 в обоих случаях.

Разведение	Сыворотка			Культуральная среда		
	Измеренное, пг/мл	Ожидаемое, пг/мл	% от Ожидаемого	Измеренное, пг/мл	Ожидаемое, пг/мл	% от Ожидаемого
Нет	1834	-	-	1497	-	-
1/2	893	917	97	745	749	99
1/4	493	459	107	386	374	103
1/8	245	229	107	196	187	105
1/16	118	115	103	93	94	99
1/32	58	57	102	47	47	100

пг/мл), должны быть разведены *буфером для разведения*

## ИЗВЛЕЧЕНИЕ

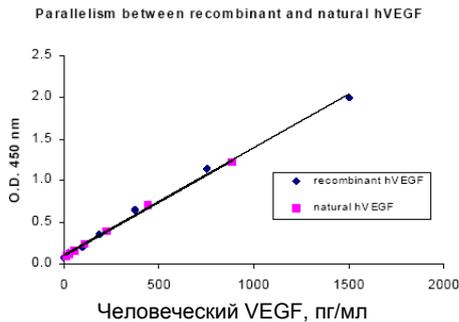
Извлечение человеческого VEGF, добавленного в нормальную человеческую сыворотку, составило в среднем 95%. Извлечение человеческого VEGF, добавленного в нормальную человеческую ЭДТА или цитратную плазму составило в среднем 92% и 99%, соответственно. Извлечение человеческого VEGF, добавленного в культуральную среду, содержащую 1% фетальную телячью сыворотку, составило в среднем 90%.

Извлечение человеческого VEGF, добавленного в культуральную среду, содержащую 10% фетальную телячью сыворотку, составило в среднем 88%.

## ПАРАЛЛЕЛИЗМ

Нативный человеческий VEGF был серийно разведен *буфером для разведения стандартов*. Оптическая плотность, соответствующая каждому разведению, отображена на графике со стандартной кривой.

Параллелизм между нативной и рекомбинантной формами белка продемонстрирован на графике, приведенном ниже и свидетельствует о том, что стандарты, входящие в набор, адекватно отражают содержание нативного человеческого VEGF в образцах.



## СПЕЦИФИЧНОСТЬ

Серия буферных растворов, содержащих исследуемые на перекрестное влияние вещества в концентрации 10000 пг/мл, была проанализирована с помощью набора BioSource International, Inc. человеческого VEGF. Следующие вещества были проанализированы, и для вышеуказанной концентрации у них не была обнаружена перекрестная активность:

человеческие IL-1 $\beta$ , IL-2, IL-6, IL-8, IL-10, IL-13, IL-15, EGF, FGF основной, FGF кислый, G-CSF, GM-CSF, IFN- $\gamma$ , RANTES, SCF, TGF- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ ; мышиные IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-10, G-CSF, GM-CSF, IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ ; крысиные IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-10, GM-CSF, IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ . VEGF-165 мыши и крысы показали 0.25% и 0.11% перекрестную реактивность, соответственно.

Человеческий VEGF-121 показал 100% перекрестную реактивность и полный параллелизм с человеческого VEGF-165.

## ОЖИДАЕМЫЕ ЗНАЧЕНИЯ

Гладкомышечные клетки бронхов человека культивировали в течение 144 часов с/без hTNF- $\alpha$  (10 нг/мл). Значения составили 790 пг/мл и 630 пг/мл, соответственно.

15 свежесобранных образцов сыворотки и плазмы (EDTA) полученные от здоровых доноров, были протестированы с помощью данного набора.

Значения для сывороток составили от 40 до 600 пг/мл (среднее 270 пг/мл). Значения для проб плазмы составили от 0 до 120 пг/мл (среднее 20 пг/мл).

13 предварительно замороженных образцов цитратной плазмы были протестированы с помощью данного набора. Все образцы были ниже чувствительности данного метода.



ОФИЦИАЛЬНЫЙ ДИСТРИБЬЮТОР

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