



- Додати 100 мкл кожного стандарту (див. Підготовка реагентів, крок 3) і зразка у відповідні лунки. Накрити лунки і інкубувати протягом 2,5 годин при кімнатній температурі при обережному струшуванні.
- Видалити розчин і промити 4 рази з 1x Розчином для Промивання. Промити шляхом заповнення кожної лунки Промивним Буфером (300 мкл) з використанням багатоканальної піпетки або авто промивного пристрою. Повне видалення рідини на кожній стадії є необхідною умовою гарної роботи. Після останньої промивки видалити залишки Промивного Буфера шляхом аспірації або декантування. Перевернути планшет і промокнути чистими паперовими рушниками.
- Додати 100 мкл 1x підготовлених біотинильованих антитіл (Підготовка реагентів, крок 6) в кожну лунку. Інкубувати протягом 1 години при кімнатній температурі з обережним струшуванням.
- Видалити розчин. Повторити промивання як в кроці 4.
- Додати 100 мкл приготованого Розчину стрептавідину (див. Підготовка реагентів, крок 7) в кожну лунку. Інкубувати протягом 45 хвилин при кімнатній температурі з обережним струшуванням.
- Видалити розчин. Повторити промивання як в кроці 4.
- Додати 100 мкл реагенту Субстрату ТМВ одно крокового (Елемент Н) в кожну лунку. Витримати протягом 30 хвилин при кімнатній температурі в темряві з легким струшуванням.
- Додати 50 мкл Стоп-розчину (Елемент І) в кожну лунку. Зчитати результат при 450 нм негайно.

#### VII. СУМАРНА ПРОЦЕДУРА ТЕСТУВАННЯ

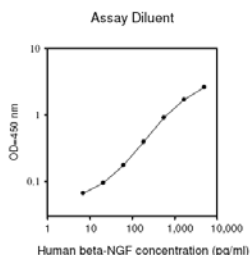
- Підготувати всі реагенти, зразки і стандарти відповідно до інструкції.
- Додати 100 мкл стандарту або зразка в кожну лунку. Витримати 2,5 години при кімнатній температурі.
- Додати 100 мкл підготовлених антитіл біотину в кожну лунку. Інкубувати 1 годину при кімнатній температурі.
- Додати 100 мкл приготованого розчину стрептавідину. Інкубувати 45 хвилин при кімнатній температурі.
- Додати 100 мкл Реагент субстрату ТМВ одно крокового в кожну лунку. Інкубувати 30 хвилин при кімнатній температурі.
- Додати 50 мкл стоп розчину в кожну лунку. Зчитати результат при 450 нм негайно.

#### VIII. ПІДРАХУНОК РЕЗУЛЬТАТІВ

Розрахувати середню абсорбцію для кожного набору повторюваних стандартів, контролів і зразків і відняти середню оптичну щільність нульового стандарту. Побудувати Стандартну криву на логарифмічній міліметрівці або за допомогою програмного забезпечення Sigma, зі стандартною концентрацією на осі x і абсорбцією на осі y. Намалювати найбільш підходящу пряму лінію через стандартні точки.

#### A. ТИПОВІ ДАНІ

Ці стандартні криві наведені тільки для демонстрації. Стандартна крива повинна бути побудована для кожного аналізу.



#### B. ЧУТЛИВІСТЬ

Мінімальна доза Beta-NGF, яка визначається, становить 14 пг/мл. Мінімальна доза, яка визначається, розраховується як концентрація аналізованої речовини, що є результатом абсорбції, яка на 2 стандартних відхилення вище, ніж бланк (буфер розчинника).

#### C. ВІДНОВЛЕННЯ

Відновлення визначалось додаванням різних рівнів Beta-NGF в наступні типи зразків. Середні значення наведені нижче:

Тип зразка	Середнє відновлення, %	Діапазон, %
Сироватка	113.1	98-116
Плазма	102.8	85-117
Клітини культурального середовища	106.7	90-122

#### D. ЛІНІЙНІСТЬ

Тип зразка	Сироватка	Плазма	Клітини культурального середовища
1:2 Середнє значення від Очікуваного Діапазон (%)	125.7 110-134	130.4 114-139	94 85-104
1:4 Середнє значення від Очікуваного Діапазон (%)	92.08 80-102	107.8 89-138	83 71-103

#### E. ВІДТВОРЮВАНІСТЬ

Всередині серії: CV <10%  
Між серіями: CV <12%

#### IX. СПЕЦИФІЧНІСТЬ

Даний ІФА не проявляє перехресної реактивності з будь-яким з наступних випробуваних цитокинів: *human Angiogenin, BDNF, BLC, ENA-78, FGF-4, IL-1α, IL-1β, IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-9, IL-10, IL-11, IL-12 p70, IL-12 p40, IL-13, IL-15, IL-309, IP-10, G-CSF, GM-CSF, IFN-γ, Leptin (OB), MCP-1, MCP-3, MDC, MIP-1α, MIP-1β, MIP-1δ, MMP-1, -2, -3, -10, PARC, RANTES, SCF, TARC, TGF-β, TIMP-1, TIMP-2, TNF-α, TNF-β, TPO, VEGF.*

#### X. МОЖЛИВІ НЕСПРАВНОСТІ І ЇХ УСУНЕННЯ

Проблема	Причина	Усунення
Погана стандартна крива	<ul style="list-style-type: none"> <li>Неакуратне піпетування</li> <li>Неадекватне розведення стандарту</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Перевірити піпетки</li> <li>Переконайтеся, що Ви покрутили пробірку з елементом С і ретельно розчинили порошок обережним перемішуванням</li> </ul>
Слабкий сигнал	<ul style="list-style-type: none"> <li>Занадто короткий час інкубації</li> <li>Неадекватні обсяги реагентів або неправильне розведення</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Переконайтеся, що Ви покрутили пробірку з елементом С і ретельно розчинили порошок обережним перемішуванням</li> <li>Переконайтеся в достатньому часі інкубації; крок 3 процедури аналізу поміняти на інкубацію протягом ночі</li> <li>Перевірте піпетки і переконайтеся в належній підготовці</li> </ul>
Високий CV	<ul style="list-style-type: none"> <li>Неакуратне піпетування</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Перевірте піпетки</li> </ul>
Завищений задній фон	<ul style="list-style-type: none"> <li>Планшет погано промитий</li> <li>Забруднений промивний буфер</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Перевірити інструкції щодо належного промивання</li> <li>Якщо використовується промивний пристрій, перевірте, чи всі порти доступні</li> <li>Приготуйте свіжий промивний буфер</li> </ul>
Низька чутливість	<ul style="list-style-type: none"> <li>Неналежне зберігання набору</li> <li>Стоп розчин</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Зберігати стандарт при &lt; 70 °C після відновлення, решту при 4 °C. Зберігати розчин субстрату захищеним від світла</li> <li>Стоп розчин повинен бути доданий в кожну лунку перед аналізом</li> </ul>



#### ОФІЦІЙНИЙ ДИСТРИБ'ЮТОР

ТОВ «ДІАМЕБ»  
вул. Чорновола, 97  
м. Івано-Франківськ, 76005  
тел.: +38 (0342) 775 122  
факс: +38 (0342) 775 123  
e-mail: [info@diameb.ua](mailto:info@diameb.ua)  
[www.diameb.com](http://www.diameb.com)

© Переклад українською мовою ТОВ «ДІАМЕБ»