

ME E-0300 Лептин, набор реагентов для ИФА

Набор реагентов для иммуноферментного анализа для количественного определения Лептина в сыворотке крови человека.

Этот тест предназначен только для in-vitro диагностики.

1. Дополнительные необходимые материалы и оборудование, не входящие в комплект:

- прецизионные микропипетки с одноразовыми наконечниками на 20-100 мкл
- дистиллированная или деионизированная вода
- микропланшетный шейкер
- Микропланшетный анализатор с фильтром, установленным на длине 450 нм и пределом ОП 3.0 или больше

2. Компоненты набора.

Набор содержит достаточное количество реагентов для 96 количественных определений.

Реагенты должны храниться в холодильнике при 2-8 °С.

Стабильность реагентов: в упаковке при 2-8°С до истечения срока годности указанного на этикетке.

ME E-0331

Разборный микропланшет, покрытый мышинными анти-Лептин антителами.

Содержит: Один 96 луночный (12x8) микропланшет с моноклональными антителами в закрывающемся пакете с осушителем.

ME E-0341 Моноклональный анти-Лептин-Биотин конъюгат

конъюгат анти-Лептин моноклональных антител с Биотином в буферном растворе с консервантом не содержащем ртуть.

Объем: 10 мл/флаконе

ME E-0340 Концентрированный конъюгат Streptavidin-HRP- x50

Стрептавидин конъюгат с пероксидазой хрена (HRP) в буферном растворе с консервантом не содержащем ртуть.

Объем: 0,4 мл/флаконе

Способ приготовления: развести 1:50 с буфером для анализа перед использованием (например, 40 мкл концентрата в 2 мл буфера). Если будет использоваться весь планшет то нужно развести 240 мкл концентрата в 12 мл буферного раствора для анализа. Не использовать, что осталось.

Стандарты

шесть флаконов содержащих лептин в основном буфере с консервантом не содержащем ртуть.

Содержат заданные концентрации лептина в буферном растворе.

Ниже приведены примерные концентрации, пожалуйста, обратитесь к этикетке на флаконе для точной концентрации:

Кат.номер	Стандарт	Концентрация	Объем
ME E-0301	Стандарт А	0 нг/мл	0,5 мл
ME E-0302	Стандарт В	1 нг/мл	0,5 мл
ME E-0303	Стандарт С	5 нг/мл	0,5 мл
ME E-0304	Стандарт D	10 нг/мл	0,5 мл
ME E-0305	Стандарт E	20 нг/мл	0,5 мл
ME E-0306	Стандарт F	50 нг/мл	0,5 мл
ME E-0307	Стандарт G	100 нг/мл	0,5 мл

ME E-0351 Контроль

один флакон, содержащий раствор лептина в основном буфере с консервантом не содержащем ртуть. Содержит сыворотку с заданной концентрацией лептина. Диапазон ожидаемого значения указан на этикетке флакона.

Объем: 0,5 мл/флаконе.

AA E-0325 Концентрат промывочного буфера – x10

Содержит: 1 бутыл с не ионным промывочным раствором и консервантом не содержащим ртуть.

Объем: 50 мл/бутыл

Способ приготовления: Перед использованием разведите дистиллированной или деионизированной водой 1:10. Если будет использован весь планшет, то разбавьте 50 промывочного буфера с 450 мл воды.

ME E-0313 Буфер для анализа

Содержит: 1 флакон, содержащий основной белковый буферный раствор с консервантом не содержащим ртуть.

Объем: 20 мл/флаконе

AA E-0355 ТМБ-субстрат

Содержит: Один флакон, содержащий тетраметилбензидин и перекись водорода в не- DMF или DMSO содержащем буфере.

Объем: 16 мл/флаконе

AA E-0380 Стоп-раствор

Содержит: 1 флакон, содержащий 1 М серной кислоты.

Объем: 6 мл/флаконе

Процедура анализа

Перед использованием все реагенты должны достичь комнатной температуры. Стандарты, контроли и образцы проб должны быть исследованы в дублях. Как только процедура начата, все этапы должны быть завершены без перерыва.

1. Приготовьте рабочие растворы Streptavidin-HRP конъюгата и промывочного буфера.
2. Добавьте 20 мкл каждого стандарта, контроля и образца сыворотки в соответствующие лунки в дублях.
3. Добавьте 80 мкл моноклонального анти-лептин-биотин конъюгата в каждую лунку
4. Инкубируйте в шейкере при 200 об./мин. в течение 1 часа при комнатной температуре.
5. Промойте каждую лунку по 3 раза: внося по 300 мкл раствора промывочного буфера, удаляя остатки влаги абсорбирующей бумагой (мы рекомендуем использовать вошер).
6. Добавьте приготовленного Streptavidin-HRP конъюгата в каждую лунку.
7. Инкубируйте в шейкере при 200 об./мин. в течение 30 минут при комнатной температуре
8. Промойте каждую лунку 3 раза, так же как в 5 этапе
9. Добавьте 100 мкл ТМБ-субстрата в каждую лунку через заданные интервалы времени.
10. Инкубируйте в шейкере в течение 10-15 минут при комнатной температуре
11. Добавьте 50 мкл Стоп-раствора в каждую лунку через те же интервалы, что и в этапе 9.
12. Считайте результат на микропланшетном анализаторе при 450 нм в течение 20 минут после добавления Стоп-раствора.

Расчет результатов.

1. рассчитайте среднюю оптическую плотность каждого стандарта в дублях
2. Нарисуйте калибровочную кривую на логарифмической бумаге со средней оптической плотности на оси ординат и концентрацией калибратора на оси абсцисс. Если для анализа используется программное обеспечение, то рекомендуется кривая на 4-параметра.
3. рассчитайте среднюю оптическую плотность каждого неизвестного в дублях.
4. Рассчитайте значение неизвестных при помощи калибровочной кривой.
5. Если образец получается более 100 нг/мл, то разведите его буфером для разведения в соотношении не более 1:8. Полученный результат следует умножить на фактор разведения.

Типичная таблица (не используйте для расчета)

Калибратор	ОП 1	ОП 2	Средняя ОП	Концентрация (нг/мл)
A	0.073	0.070	0.072	0
B	0.102	0.100	0.101	1
C	0.290	0.293	0.292	5
D	0.620	0.630	0.625	10
E	1.140	1.086	1.113	20
F	1.947	1.919	1.933	50
G	2.518	2.514	2.516	100
Неизвестная	0.275	0.273	0.274	4.22

Типичная калибровочная кривая (не используйте для расчета)
см. оригинал инструкции.

Чувствительность: Предел обнаружения составляет 0,50 нг / мл

Ожидаемые нормальные значения

Это касается всех клинических анализов, каждая лаборатория должна собирать данные и создавать свои собственные диапазоны ожидаемых нормальных значений.

Группа	Среднее значение (нг/мл)	Диапазон (нг/мл)
Женщины (натошак)	7.4	3.7-11.1
Мужчины (натошак)	3.8	2.0-5.6