



IMMUNOASSAYS AND SERVICES

BIOGENIC AMINES & NEUROSCIENCE | ENDOCRINOLOGY | FOOD SAFETY

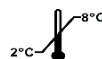
LABOR DIAGNOSTIKA NORD GmbH & Co.KG | Am Eichenhain 1 | 48531 Nordhorn | Germany | Tel. +49 5921 8197-0 | Fax +49 5921 8197-222 | info@ldn.de | www.ldn.de

Інструкція із застосування
3-катехоламіни
(адреналін,норадреналін,дофамін)
високочутливий ІФА

Уповноважений представник: ТОВ «НОВАМЕДЛАЙН», 01010, м. Київ, вул. Омеляновича-Павленка, буд. 19 А, оф. 1,
тел. (044) 223-83-18, info@novamedline.com, www.novamedline.com

REF

BA E-5600R



RUO

For research
use only –
Not for use
in diagnostic
procedures

Зміст

1.	Цільове використання та принцип <i>аналізу</i>	3
2.	Процедурні застереження, вказівки та попередження	3
3.	Зберігання та стабільність	3
4.	Матеріали	4
4.1	Вміст набору	4
4.2	Калібрування та контроль	6
4.3	Потрібні додаткові матеріали, але вони не входять до набору	6
4.4	Потрібне додаткове обладнання, але не входить до набору	6
5.	Збір зразків, обробка та зберігання	6
6.	Процедура аналізування	6
6.1	Підготовка реактивів і подальші нотатки	7
6.2	Пробопідготовка	7
6.3	Екстракція та ацилювання	7
6.4	Ферментативне перетворення	8
6.5	ІФА на адреналін, норадреналін і дофамін	9
7.	Підрахунок результатів	9
7.1	Контроль якості	9
8.	Характеристики аналізу	10

Супутні товари:

- АДРЕНАЛІН високочутливий ІФА
- НОРАДРЕНАЛІН високочутливий ІФА
- Високочутливий ІФА на допамін
- 2-САТ високочутливий ІФА

1. Призначення та принцип аналізу

Імуноферментний аналіз для кількісного визначення адреналіну (епінефрину), норадреналіну (норадреналіну) і дофаміну. Гнучка система аналізування для різних типів і об'ємів біологічних зразків.

Адреналін (епінефрин), норадреналін (норадреналін) і дофамін екстрагуються за допомогою цис-діол-специфічного афінного гелю, ацилюються і потім перетворюються ферментативно.

Подальший конкурентний ІФА використовує формат мікропланшету. Антиген зв'язується з твердою фазою мікротитраційної пластини. Похідні стандарти, контролю та зразки конкурують з твердою фазою зв'язані аналіти для фіксованої кількості сайтів зв'язування антитіл. Після того, як система досягне рівноваги, вільний антиген і вільні комплекси антиген-антитіло видаляють промиванням. Антитіло, зв'язане з твердою фазою, виявляється за допомогою кон'югату IgG-пероксидази кролика з використанням ТМБ як субстрату, що призводить до кольорової реакції. Реакцію контролюють при довжині хвилі 450 нм.

Кількісне визначення невідомих зразків досягається шляхом порівняння їх поглинання з референтною кривою, підготовленою з відомими стандартними концентраціями.

2. Процедурні застереження, вказівки попередження

- (1) Цей набір призначений лише для професійного використання. Користувачі повинні мати повне розуміння цього протоколу для успішного використання цього набору. Дійсною є лише інструкція до аналізу, що додається до набору повинен використовуватися для проведення аналізу. Надійна робота буде досягнута лише за умови суворого та ретельного дотримання наданих інструкцій.
- (2) Необхідно дотримуватися принципів належної лабораторної практики (GLP).
- (3) Щоб зменшити вплив потенційно шкідливих речовин, одягайте лабораторні халати, одноразові захисні рукавички та захисні окуляри, де це необхідно.
- (4) Усі реагенти та зразки з набору слід довести до кімнатної температури та обережно, але ретельно перемішати перед використанням. Для розведення або відновлення використовуйте деіонізовану, дистильовану або надчисту воду. Уникайте повторного заморожування та відтавання реагентів і зразків.
- (5) Мікропланшет містить стріпи, що відриваються. Невикористані лунки необхідно зберігати при 2-8°C в герметичному пакеті з фольги з осушувачем і використовується в рамці, що надається. Стріпи для мікротитрування, які виймаються з рами для використання, повинні бути відповідно помічені, щоб уникнути будь-якої плутанини.
- (6) Настійно рекомендується повторне визначення зразка.
- (7) Після початку аналізу всі кроки повинні бути завершені без перерви. Переконайтеся, що необхідні реактиви, матеріали, і пристрої готуються до використання у відповідний час.
- (8) Час інкубації впливає на результати. Усі лунки слід обробляти в однаковому порядку та з однаковими інтервалами часу.
- (9) Щоб уникнути перехресного забруднення реагентів, використовуйте нові одноразові наконечники піпеток для дозування кожного реагенту, зразка, стандарту та контролю.
- (10) Стандартна крива повинна бути встановлена для кожного циклу.
- (11) Контролі повинні бути включені в кожен прогін і знаходитися в межах встановлених довірчих меж. Межі достовірності вказані у звіті про контроль якості, що надається разом із набором.
- (12) Не змішуйте компоненти набору з різними номерами партій у тесті та не використовуйте реагенти після закінчення терміну придатності, зазначеного на етикетках набору.
- (13) Уникайте контакту зі стоп-розчином, що містить 0,25 М H₂SO₄. Це може викликати подразнення шкіри та опіки. У разі потрапляння в очі або на шкіру негайно змийте водою.
- (14) Субстрат ТМБ має подразнюючу дію на шкіру та слизові оболонки. У разі можливого контакту промити очі великою кількістю води, а шкіру – великою кількістю води з милом. Промийте забруднені речі перед повторним використанням.
- (15) Для інформації про небезпечні речовини, що входять до набору, зверніться до паспорта безпеки (SDS). Паспорт безпеки для цього продукту доступний безпосередньо на веб-сайті виробника або за запитом.
- (16) Реагенти набору слід розглядати як небезпечні відходи та утилізувати відповідно до національних норм.
- (17) У разі будь-якого серйозного пошкодження тестового набору або компонентів виробник повинен бути проінформований письмово не пізніше ніж через тиждень після отримання набору. Сильно пошкоджені окремі компоненти не можна використовувати для тестового запуску. Їх потрібно правильно зберігати, поки виробник не вирішить, що з ними робити. Якщо буде вирішено, що вони більше не придатні для вимірювань, їх необхідно утилізувати відповідно до національних норм.

3. Зберігання та стабільність

Зберігайте набір і реагенти при 2–8 °C до закінчення терміну придатності. Не використовуйте набір і компоненти після закінчення терміну придатності, зазначеного на етикетках набору. Після відкриття реагенти стабільні протягом 2 місяців за умови зберігання при 2–8 °C. Після того, як повторно закривається пакет планшета для ІФА, слід подбати про те, щоб знову щільно закрити його разом із осушувачем.

4. Матеріали

4.1 Вміст набору

BA D-0032	Ш96	Мікротитраційний планшет – готовий до використання
Зміст:	1 x 96 лунок, порожні в пакеті, що закривається	
BA D-0090	ФОЛЬГА	Клейка фольга – готовий до використання
Зміст:	Клейка фольга в пакеті, що закривається	
номер:	1 x 4 фольги	
BA E-0030	WASH-CONC 50x	Концентрат промивного буфера – концентрований 50x
Зміст:	Буфер з неіонним м'яким засобом і фізіологічним рН	
обсяг:	1 x 20 мл/флакон, фіолетовий ковпачок	
BA E-0040	CONJUGATE	Ферментний кон'югат – готовий до використання
Зміст:	Козячі антикролячі імуноглобуліни, кон'юговані з пероксидазою	
обсяг:	1 x 12 мл/флакон, червоний ковпачок	
опис:	Вид - коза	
BA E-0055	SUBSTRATE	Субстрат – готовий до використання
Зміст:	Хромогенний субстрат, що містить 3,3',5,5'-тетраметилбензидин, субстратний буфер і перекис водню	
обсяг:	1 x 12 мл/флакон, чорна кришка	
BA E-0080	STOP-SOLN	Стоп розчин – готовий до використання
Зміст:	0,25 М сірчаної кислоти	
обсяг:	1 x 12 мл/флакон, сірий ковпачок	
BA E-0131	ШADR MN	Мікротитрувальні стріпи адреналіну – готовий до використання
Зміст:	1 x 96 лунок (12 x 8) мікропланшет із попередньо покритим антигеном у блакитному пакеті, що закривається, із осушувачем	
BA E-0231	ШНАД НМН	Мікротитрувальні стріпи норадреналіну – готовий до використання
Зміст:	1 x 96 лунок (12 x 8) мікропланшет із попередньо покритим антигеном у жовтому пакеті, що закривається, із осушувачем	
BA E-0331	ШDOP	Дофамінові мікротитрувальні стріпи – готовий до використання
Зміст:	1 x 96 лунок (12 x 8) мікропланшет із попередньо покритим антигеном у зеленому пакеті, що закривається, із осушувачем	
BA E-5110	ADR-AS	Антисироватка адреналіну – готовий до використання
Зміст:	Кролик анти-адреналінові антитіла в буфері з білками та безртутним консервантом, синього кольору	
обсяг:	1 x 6 мл/флакон, синій ковпачок	
опис:	Вид антитіла – кролячий, вид білка в буфері – бичачий	
BA E-5210	NAD-AS	Норадреналінова антисироватка – готовий до використання
Зміст:	Кролик анти-норадреналінові антитіла в буфері з білками та безртутним консервантом, жовтого кольору	
обсяг:	1 x 6 мл/флакон, жовтий ковпачок	
опис:	Вид антитіла – кролячий, вид білка в буфері – бичачий	

BA E-5310	DOP-AS	Дофамінна антисироватка – готовий до використання
Зміст:	Кролик аантидофамінове антитіло в буфері з білками та безртутним консервантом, зеленого кольору	
обсяг:	1 x 6 мл/флакон, зелений ковпачок	
опис:	Вид антитіла – кролячий, вид білка в буфері – бичачий	
BA E-6612	ACYL-REAG	Реагент ацилювання – готовий до використання
Зміст:	Ацилювання реагент в ДМСО	
обсяг:	1 x 3 мл/флакон, білий ковпачок	
BA R-0050	ADJUST-BUFF	Буфер коригування – готовий до використання
Зміст:	TRIS буфер	
обсяг:	1 x 4 мл/флакон, зелений ковпачок	
BA R-4617	TE-BUFF	ТЕ Буфер – готовий до використання
Зміст:	Буфер TRIS-EDTA	
обсяг:	1 x 4 мл/флакон, коричневий ковпачок	
BA R-6611	ACYL-BUFF	Буфер ацилювання – готовий до використання
Зміст:	Брозчин з легким лужним рН для ацилювання	
обсяг:	1 x 20 мл/флакон, білий ковпачок	
BA R-6614	COENZYME	Кофермент - готовий до використання
Зміст:	S-аденозил-L-метіонін	
обсяг:	1 x 4 мл/флакон, фіолетовий ковпачок	
BA R-6615	ENZYME	фермент – ліофілізований
Зміст:	Сатехол-О-метилтрансфераза	
обсяг:	4 флакони, рожева кришка	
опис:	Сатехол-О-метилтрансфераза з печінки свині	
BA R-6618	EXTRACT-PLATE 48	Екстракційний планшет – готовий до використання
Зміст:	2 x 48-лункові планшети, вкриті боронатним афінним гелем, у пакеті, що закривається	
BA R-6619	HCL	Хлористо-воднева кислота – готовий до використання
Зміст:	0,025 М соляна кислота, жовтого кольору	
обсяг:	1 x 20 мл/флакон, темно-зелений ковпачок	

4.2 Калібрування та контролю

Стандарти та контролю – готові до використання

Кат №.	компонент	Колір/ Ковпачок	Концентрація [нг/мл]			Концентрація [нмоль/л]			Об'єм/ флакон
			ADR	NAD	DOP	ADR	NAD	DOP	
BA R-5601	СТАНДАРТА	білий	0	0	0	0	0	0	4 мл
BA R-5602	СТАНДАРТВ	жовтий	0,5	0,2	0,5	2.7	1.2	3.3	4 мл
BA R-5603	СТАНДАРТС	помаранчевий	1.5	0,6	1.5	8.2	3.5	9.8	4 мл
BA R-5604	СТАНДАРТД	блакитний	5	2	5	27	12	33	4 мл
BA R-5605	СТАНДАРТЕ	сірий	20	8	20	109	47	131	4 мл
BA R-5606	СТАНДАРТФ	чорний	80	32	80	437	189	522	4 мл
BA R-5651	КОНТРОЛЬ1	зелений	Очікуване значення та прийнятний діапазон див. у сертифікаті про контроль якості.						4 мл
BA R-5652	КОНТРОЛЬ2	червоний							4 мл

Перетворення:
адреналін [нг/мл] x 5,46 = адреналін [нмоль/л]
норадреналін [нг/мл] x 5,91 = норадреналін [нмоль/л]
дофамін [нг/мл] x 6,53 = дофамін [нмоль/л]

Зміст: Кислий буфер з безртутним стабілізатором, доданим певною кількістю адреналіну, норадреналіну та дофаміну.

4.3 Потрібні додаткові матеріали, але вони не входять до набору

- Вода (деіонізована, дистильована або надчиста)
- Вбираючий матеріал (паперовий рушник)

4.4 Потрібне додаткове обладнання, але не входить до набору

- Калібровані прецизійні піпетки для дозування об'ємів від 1 до 750 мкл; 1 мл
- Пристрій для миття мікропланшетів (ручний, напівавтоматичний або автоматичний)
- Зчитувач ІФА, здатний зчитувати поглинання при 450 нм і, якщо можливо, 620 – 650 нм
- Шейкер для мікропланшетів (амплітуда струшування 3 мм; приблизно 600 об/хв)
- Вихровий змішувач
- Інкубатор з контрольованою температурою (37 °C) або аналогічний нагрівальний пристрій

5. Збір зразків, транспортування та зберігання

Зберігання: до 6 годин при 2 – 8 °C; на більш тривалий період (до 6 місяців) при -20 °C або -80 °C.

Поради щодо збереження біологічного зразка: щоб запобігти розпаду катехоламіну, додайте до зразка EDTA (кінцева концентрація 1 мМ) і метабісульфіт натрію (кінцева концентрація 4 мМ).

6. Процедура аналізування

Перед використанням дайте всім реагентам і зразкам нагрітись до кімнатної температури та ретельно перемішайте, обережно перевертаючи. Пронумеруйте планшет для мікротитрування, планшет для екстракції та планшети для мікролунок (Стріпи для мікротитрування, які вилучаються з рами для використання, мають бути позначені відповідним чином, щоб уникнути будь-якої плутанини). Рекомендується повторювати визначення.

Зв'язування антисироватки і кон'югату ферменту, а також активність ферменту залежать від температури. Чим вища температура, тим вищими будуть показники поглинання. Різний час інкубації матиме подібний вплив на поглинання. Оптимальна температура під час проведення імуноферментного аналізу становить 20–25 °C.

Якщо продукт готується частинами, невикористані лунки в планшетах для екстракції слід закрити, щоб уникнути забруднення. Після підготовки використані лунки необхідно маркувати для запобігання повторному використанню.

Під час нічної інкубації при 2–8 °C з антисироваткою температура має бути рівномірною по всій пластині ІФА, щоб уникнути будь-якого дрейфу та ефекту країв.

⚠ У разі переповнення протягом 10 хвилин зчитуйте поглинання розчину в лунках, використовуючи рідер для мікропланшетів, встановлений на 405 нм.

6.1 Підготовка реактивів і подальші нотатки

Промивний буфер

Розведіть 20 мл концентрату промивного буфера WASH-CONC 50X водою до кінцевого об'єму 1000 мл.
Зберігання: 2 місяці при 2 – 8 °C

Розчин ферменту

Розчиніть вміст флакона ENZYME 1 мл води (деіонізованої, дистильованої або ультрачистої) і ретельно перемішайте. Додайте 0,3 мл COENZYME, а потім 0,7 мл ADJUST-BUFF. Загальний об'єм розчину ферменту 2,0 мл.

⚠ Розчин ферменту необхідно приготувати свіжим перед аналізом (не більше 10– за 15 хвилин). Викинути після використання!

Стріпи для мікротитрування адреналіну, стріпи для мікротитрування норадреналіну та стріпи для мікротитрування дофаміну

У рідкісних випадках залишки блокуючого та стабілізуючого реагенту можна побачити в лунках у вигляді маленьких білих точок або ліній. Ці залишки не впливають на якість продукту.

Реагент ацилювання

ACYL-REAG (BA E-6612) має температуру замерзання 18,5 °C. Щоб переконатися, що він є рідким під час використання, перед використанням необхідно переконатися, що реагент ацилювання досяг кімнатної температури та утворює однорідний розчин без кристалів.

6.2 Пробопідготовка

Високочутливий ІФА 3-CAT є гнучкою системою аналізування для різних типів і об'ємів біологічних зразків. Неможливо дати загальну пораду щодо підготовки зразків. Однак наведені нижче основи повинні допомогти досліднику адаптувати протокол до його конкретних потреб.

- Уникайте надлишку кислоти: надлишок кислоти може перевищити буферну ємність екстракційного буфера. $\text{pH} > 7,0$ під час екстракції є обов'язковим.
- Запобігайте розпаду катехоламінів, додавши консерванти до зразка (див. Збір зразків, обробка та зберігання).
- Уникайте хаотропних хімічних речовин, таких як хлорна кислота. Високий вміст солі може зменшити відновлення катехоламінів. Якщо ваші зразки вже містять велику кількість хлорної кислоти, нейтралізуйте їх перед етапом екстракції.
- Зразки тканин можна гомогенізувати в 0,01 N HCl у присутності ЕДТА та метабісульфіту натрію. За цих умов катехоламіни заряджені позитивно, що зменшує зв'язування з білками та оптимізує розчинність.
- Уникайте зразків, які містять речовини зі структурою цис-діолу. Це зменшить відновлення катехоламінів.
- Бажано виконати «Доказ принципу», щоб визначити відновлення катехоламінів у ваших зразках. Приготуйте основний розчин адреналіну, норадреналіну та дофаміну. Додайте невеликі кількості (щоб якомога менше змінити матрицю нативного зразка) вихідних розчинів до матриці зразка та перевірте відновлення.
- Використаний обсяг зразка визначає чутливість цього аналізу. Визначте об'єм зразка, необхідний для визначення катехоламінів у вашому зразку, досліджуючи різні обсяги зразка.

Якщо вам потрібна допомога у створенні протоколу для ваших конкретних цілей, не соромтеся звертатися безпосередньо до виробника!

6.3 Екстракція та ацилювання

Високочутливий ІФА 3-CAT пропонує гнучку тест-систему для різних типів і об'ємів біологічних зразків. Крок 1 процедури екстракції залежить від об'єму зразка:

- якщо у вас є об'єм зразка від 1 до 100 мкл, дотримуйтесь 1.1
- якщо у вас є об'єм зразка від 100 до 500 мкл, дотримуйтесь 1.2
- якщо у вас є об'єм зразка від 500 до 750 мкл, виконайте 1.3

⚠ У серії можна вимірювати лише зразки з однаковим об'ємом!

1.	1.1	1.2	1.3
	Об'єм зразка 1 – 100 мкл	Об'єм проби 100 – 500 мкл	Об'єм зразка 500 – 750 мкл
	Внесіть піпеткою у відповідні лунки EXTRACT-PLATE 48 : стандарти 30 мкл, 30 мкл контролів і 1 – 100 мкл зразка. Заповніть кожну лунку водою (дейонізованою, дистильованою або ультрачистою) до кінцевого об'єму 100 мкл [наприклад, 30 мкл стандартної плюс 70 мкл води (дейонізованої, дистильованої або ультрачистої)].	Внесіть піпеткою у відповідні лунки EXTRACT-PLATE 48 : стандарти 30 мкл, 30 мкл контролів і 100 – 500 мкл зразка. Заповніть кожну лунку водою (дейонізованою, дистильованою або ультрачистою) до кінцевого об'єму 500 мкл [наприклад, 30 мкл стандартної плюс 470 мкл води (дейонізованої, дистильованої або ультрачистої)].	Внесіть піпеткою у відповідні лунки EXTRACT-PLATE 48 : стандарти 30 мкл, 30 мкл контролів і 500 – 750 мкл зразка. Заповніть кожну лунку водою (дейонізованою, дистильованою або ультрачистою) до кінцевого об'єму 750 мкл [наприклад, 30 мкл стандартної плюс 720 мкл води (дейонізованої, дистильованої або ультрачистої)].
2.	Внесіть 25 мкл TE-BUFF в усі лунки.		
3.	Накрийте планшет з ФОЛЬГА . Збовтуйте 60 хвилин при кімнатній температурі (20–25 °C) на шейкері (приблизно 600 об/хв).		
4.	Зніміть фольгу і спорожніть планшет. Промокніть насухо постукуванням перевернутим планшетом об абсорбентний матеріал.		
5.	Внесіть 1 мл промивного буфера в усі лунки.		
6.	Струсіть 5 хв при кімнатній температурі (20–25 °C) на шейкері (прибл. 600 об/хв).		
7.	Промокніть насухо постукуванням перевернутим планшетом об абсорбентний матеріал.		
8.	Промити ще раз як описано (кроки 5, 6 і 7)!		
9.	Внесіть 150 мкл ACYL-BUFF в усі лунки.		
10.	Внесіть 25 мкл ACYL-REAG в усі лунки.		
11.	Струсіть 20 хв при кімнатній температурі (20–25 °C) на шейкері (прибл. 600 об/хв).		
12.	Спорожніть планшет і промокніть насухо постукуванням перевернутим планшетом об абсорбентний матеріал.		
13.	Внесіть 1 мл промивного буфера в усі лунки.		
14.	Струсіть 5 хв при кімнатній температурі (20–25 °C) на шейкері (прибл. 600 об/хв).		
15.	Промокніть насухо постукуванням перевернутим планшетом об абсорбентний матеріал.		
16.	Промити ще раз як описано (кроки 13, 14, 15).		
17.	Набрати 200 мкл НСЛ в усі лунки.		
18.	Покрийте планшет з ФОЛЬГА . Збовтуйте 10 хв при кімнатній температурі (20–25 °C) на шейкері (приблизно 600 об/хв). ⚠ Не зливайте супернатант після цього!		
	Для подальшого ферментативного перетворення необхідно 190 мкл супернатанту.		

6.4 Ферментативне перетворення

1.	Прокачайте 190 мкл екстрагованих стандартів, контролів і зразків у відповідні лунки мікропланшета Ш 96.		
2.	Додайте 50 мкл розчину ферменту (див. 6.1) до всіх лунок.		
3.	Покрийте планшет з ФОЛЬГА . Струсіть 1 хвилину при кімнатній температурі (20–25 °C) на шейкері (приблизно 600 об/хв), щоб перемішати.		
4.	Інкубуйте протягом 2 годин при 37 °C. Для наступного ІФА потрібні наступні об'єми супернатантів:		
	Адреналін	75 мкл	Норадреналін
			75 мкл
	Дофамін	75 мкл	
			75 мкл

6.5 ІФА на адреналін, норадреналін і дофамін

1.	Прокачайте 75 мкл стандартів, контролів і зразків із планшета для ферментів (див. 6.4) у відповідні стріпи для мікротитрування з попереднім покриттям (*1).
2.	Внесіть 50 мкл відповідної антисироватки (*2) у всі лунки.
3.	Накрийте планшет з ФОЛЬГА . Струсіть 1 хв при кімнатній температурі (20–25 °С) на шейкері (приблизно 600 об/хв).
4.	Інкубуйте протягом 15-20 годин (протягом ночі) при 2-8 °С.
5.	Зняти фольгу. Видаліть або аспіруйте вміст лунок. Вимийте тарілку 4 рази, додавши 300 мкл промивного буфера, викидаючи вміст і щоразу промокаючи, постукуючи перевернутим планшетом по абсорбуючому матеріалу.
6.	Внесіть 100 мкл КОН'ЮГАТУ в усі лунки.
7.	Інкубуйте 30 хв при кімнатній температурі (20–25 °С) на шейкері (приблизно 600 об/хв).
8.	Видаліть або аспіруйте вміст лунок. Промийте планшет 4 рази, додавши 300 мкл промивного буфера, викинувши вміст і промокнувши кожен раз, постукуючи перевернутим планшетом по абсорбуючому матеріалу.
9.	Внесіть 100 мкл СУБСТРАТУ в усі лунки.
10.	Інкубуйте 20–30 хв при кімнатній температурі (20–25 °С) на шейкері (приблизно 600 об/хв).
⚠	Уникайте впливу прямих сонячних променів!
11.	Внесіть 100 мкл STOP-SOLN в усі лунки.
12.	Прочитайте поглинання розчину в лунках протягом 10 хвилин, використовуючи рідер для мікропланшетів встановити на 450 нм (якщо доступна, рекомендована референтна довжина хвилі від 620 нм до 650 нм).

⚠ (*1): стріпи для мікротитрування адреналіну Ш ADR MN, стріпи для мікротитрування норадреналіну Ш NAD NMN, стріпи для мікротитрування дофаміну Ш DOP

(*2): антисироватка адреналіну ADR-AS, антисироватка норадреналіну NAD-AS, антисироватка дофаміну DOP-AS

7. Підрахунок результатів

Стандартна крива, яку можна використовувати для визначення концентрації невідомих зразків, отримується шляхом побудови графіка показників поглинання (обчислити середню поглинання) стандартів (лінійна, вісь у) проти відповідних стандартних концентрацій (логарифмічна, х- вісь) використовуючи концентрацію 0,001 нг/мл для Стандарту А (це вирівнювання є обов'язковим через логарифмічне представлення даних). Використовуйте нелінійну регресію для підгонки кривої (наприклад, 4-параметрична, Маркварда).

⚠ Цей тест є конкурентним аналізом. Це означає: значення OD зменшуються зі збільшенням концентрації аналіту. Значення ОП, знайдені нижче стандартної кривої, відповідають високим концентраціям аналіту в зразку, і їх слід повідомляти як позитивні.

⚠ Концентрації зразків, взяті зі стандартної кривої, необхідно помножити на поправочний коефіцієнт.

$$\text{Поправочний коефіцієнт} = \frac{30 \text{ мкл (об'єм екстрагованих стандартів)}}{\text{об'єм зразка (мкл) екстрагований}}$$

приклад

750 мкл зразка екстрагують і концентрацію, взятую зі стандартної кривої, становлять 0,15 нг/мл норадреналіну.

Поправочний коефіцієнт = $30/750 = 0,04$

Концентрація зразка = $0,15 \text{ нг/мл} \times 0,04 = 0,006 \text{ нг/мл} = 6 \text{ пг/мл}$ норадреналіну

Перетворення:

Адреналін [нг/мл] $\times 5,46 =$ адреналін [нмоль/л]

Норадреналін [нг/мл] $\times 5,91 =$ норадреналін [нмоль/л]

Дофамін [нг/мл] $\times 6,53 =$ Дофамін [нмоль/л]

7.1 Контроль якості

Межі достовірності контролів набору вказано на КЯ сертифікаті.

8. Характеристики аналізу

Чутливість (межа виявлення)	
Адреналін	0,25 нг/мл x C*
Норадреналін	0,1 нг/мл x C*
Дофамін	0,25 нг/мл x C*

C* = Поправочний коефіцієнт(див. 7.)

Аналітична чутливість(750 мкл нерозведеного зразка)	
Адреналін	10 пг/мл
Норадреналін	4 пг/мл
Дофамін	10 пг/мл

Функціональна чутливість(750 мкл нерозведеного зразка)	
Адреналін	15 пг/мл
Норадреналін	6 пг/мл
Дофамін	15 пг/мл

Аналітична специфічність (перехресна реактивність)			
Речовина	Перехресна реактивність [%]		
	Адреналін	Норадреналін	Дофамін
Похідний адреналін	100	0,14	0,03
Похідний норадреналіну	0,20	100	0,87
Похідний дофаміну	< 0,0007	0,2	100
Метанефрин	0,64	< 0,003	< 0,007
Норметанефрин	0,0009	0,48	0,008
3-метокситирамін	< 0,0007	< 0,003	0,55
3-метокси-4-гідроксифенілгліколь	0,03	0,01	< 0,007
Тирамін	< 0,0007	< 0,003	0,13
Фенілаланін, кофеїнова кислота, L-допа, гомованілова кислота, тирозин, 3-метокси-4-гідроксимигдальна кислота	< 0,0007	< 0,003	< 0,007

Точність				
Людська EDTA-плазма під час аналізу				
	Зразок	Середнє ± 3 SD [пг/мл]	CV [пг/мл]	CV [%]
Адреналін	висока	1329,3 ± 372,6	124.2	9.3
	середній	412,1 ± 129,6	43.2	10.5
	низький	37,9 ± 19,5	6.5	17.1
Норадреналін	висока	1377,4 ± 483,6	161.2	11.7
	середній	502,6 ± 126,9	42.3	8.4
	низький	32,7 ± 15,3	5.1	15.6
Дофамін	висока	1438,6 ± 465,6	155.2	10.8
	середній	565,9 ± 246,3	82.1	14.5
	низький	56,4 ± 36,3	12.1	21.5

Точність				
Середовище клітинної культури для внутрішнього аналізу (RPMI)				
	Зразок	Середнє \pm 3 SD [пг/мл]	СВ [пг/мл]	CV [%]
Адреналін	висока	1649,6 \pm 555,0	185	11.2
	середній	526,2 \pm 186,6	62.2	11.8
	низький	38,7 \pm 18,9	6.3	16.3
Норадреналін	висока	2027,8 \pm 712,5	237.5	11.7
	середній	716,5 \pm 179,7	59.9	8.4
	низький	46,0 \pm 16,8	5.6	12.2
Дофамін	висока	2784,5 \pm 1238,7	412.9	14.8
	середній	1003,7 \pm 526,2	175.4	17.5
	низький	74,7 \pm 51,6	17.2	23.0

Відновлення					
		Середнє [%]	Діапазон [%]	СВ [%]	CV [%]
Адреналін	EDTA-плазма людини	104,0	89,4 – 128,3	13.1	12.6
	Середовище клітинної культури	95.5	81,6 – 109,6	8.3	8.7
Норадреналін	EDTA-плазма людини	116.5	104,8 – 125,6	8.0	6.9
	Середовище клітинної культури	96.7	70,6 – 124,7	17.1	17.7
Дофамін	EDTA-плазма людини	97.7	83,7 – 115,9	11.8	12.1
	Середовище клітинної культури	98,6	77,7 – 113,4	12.1	12.2

⚠ Щоб отримати літературу чи будь-яку іншу інформацію, зверніться до місцевого постачальника.

⚠ Відповідальність виробника обмежується заміною неякісної продукції. Виробник не несе відповідальності за будь-які збитки або витрати, що виникають прямо чи опосередковано внаслідок використання цього продукту.

Символи:

	Температура зберігання		Виробник		Містить достатньо для <n> тестів
	Термін придатності		Код партії		
	Зверніться до інструкції із застосування		Зміст		
	Обережно		Каталожний номер		Дистриб'ютор
	Дата виготовлення				Тільки дослідницького використання!