



REF. Number : ATGK-F007

NK VUE ELISA

IN VITRO DİYAGNOSTİK AMAÇLI
IFN-γ ELISA ASSAY
NK HÜCRELERİNİN AKTİVİTESİNİ
TEST ETMEK AMAÇLIDIR.
NK TÜPÜ İLE BİRLİKTE KULLANILIR

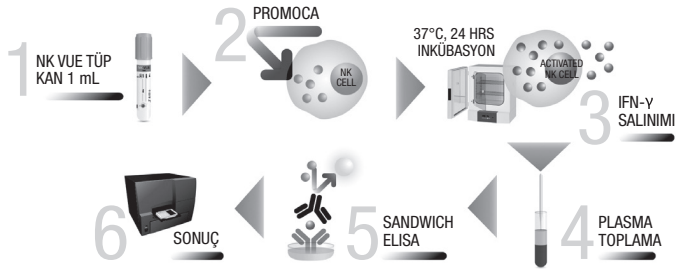
1. KULLANIM AMAÇI

Hastalardan 1ml kan NK VUE tüpü içine alınır ve hastaların plazmaları hazırlanır. NK VUE ELISA testi ile hastaların plazma örneklerinde bir IFN-γ miktarı tayini yapılmaktadır. NK VUE Tube (ayrı olarak satılır). NK VUE testi, bireylerin bağışıklık durumunun izlenmesi için in vitro diagnostik amaçlı kullanımı için tasarlanmıştır. NK hücresi aktivitesinin ölçümü, bağışıklık sisteminin izlenmesi ve bağışıklığın değişikliklerin değerlendirilmesi için yararlı bir araç olabilir. NK hücresi aktivitesinin durumu bazı hastalıkların göstergesi olabilir.

2. NK VUE'NUN ÖZETİ VE AÇIKLAMALARI

2.1 NK VUE Prensipleri

NK VUE, tam kanda NK hücrelerini stimüle etmek için tescilli bir stabilize immünomodülatör sitokin (Promoca) kullanılmaktadır. Aktivasyonundan sonra, salgılanan IFN-γ seviyelerini belirlemek enzim immunoassay (ELISA) kullanılmaktadır. Bu amaçla, anti-IFN-γ monoklonal antikor, bir mikrodalga plakaya önceden adsorbe edilmiştir. Hasta numuneleri, kuyucuklara pipetle konur, hasta örneklerindeki antijenlerin immobilize edilmiş olan IFN-γ, antikora bağlanması için bırakılır. Bağlanmamış tüm materyali yıkadıktan sonra, bir rapörtör enzime (HRP) konjugate edilmiş ikinci bir anti-IFN-γ monoklonal antikorla çukurlara ilave edilir. Bağlanmamış antikor-HRP kompleksini uzaklaştırmak için yıkama yapılır, yıkamayı takiben, substrat solüsyonu kuyucuklara eklenir renginin gelişmesine izin verilir. Bağlanmamış antikor-HRP kompleksini uzaklaştırmak için yıkama yapılır, yıkamayı takiben, substrat solüsyonu kuyucuklara eklenir renginin gelişmesine izin verilir. NK hücreleri tarafından salınan IFN-γ miktarı, IFN-γ standart eğrisine göre kıyaslanır ve nicelleştirilir. Örnekler ELISA okuyucusunda 450 nm dalga boyunda okutulur.



Şekil1. NKVue testinin prensibi

2.2 NK VUE ELISA testinin gerçekleştirilmesi için gereken süre

- 96 kuyucuklu bir ELISA plakasının manuel olarak çalışması için geçen toplam süre: ~ 4 saat (inkübasyon süresi = 2,5 saat, elle agma süresi ~ 1,5 saat). Otomatik test için bir platform kullanılıyorsa toplam süre 3-3,5 saatte kesilebilir.
- Paralel olarak çalışan her fazadan plaka için, ek olarak 15-45 dakika elle çalışmalıdır.

3. NK VUE NİN SAKLAMA KOŞULLARI

3.1 Kitin içindekiler ve Saklama

Bileşenler	Miktar	Özellik	Saklama	Son Kullanım Tarihi	
				Açılmadan	Açılmış
Mab Coated Plate (Microwell plate coated with a murine monoclonal antibody against human IFN-γ)	12 strips of 8 wells (equivalent to one 96-well plate)	colorless polystyrene plate	2-8 °C Protect from light	12 months	3 months
Standard (recombinant human IFN-γ)	1 vial (2 ng) (lyophilized)	white powder	2-8 °C Protect from light	12 months	3 months (≤ -20°C, resuspended)
Diluent	1 bottle (10 mL)	clear yellow liquid	2-8 °C Protect from light	12 months	3 months
Biotin Conjugate (100X) (biotin-conjugated murine monoclonal antibody against human IFN-γ)	1 vial (0.15 mL)	clear orange liquid	2-8 °C Protect from light	12 months	3 months
Streptavidin HRP (100X)	1 vial (0.15 mL)	clear orange liquid	2-8 °C Protect from light	12 months	3 months
Conjugate Diluent	1 bottle (13 mL)	clear orange liquid	2-8 °C Protect from light	12 months	3 months
Washing Solution, 20X	1 bottle (50 mL)	colorless liquid	2-8 °C Protect from light	12 months	3 months
TMB Substrate (tetramethyl benzidine)	1 bottle (12 mL)	colorless liquid	2-8 °C Protect from light	12 months	3 months
Stop Solution (contains 1N HCL)	1 bottle (12 mL)	colorless liquid	2-8 °C Protect from light	12 months	3 months
High Positive Control	1 vial (lyophilized)	white powder	2-8 °C Protect from light	12 months	3 months
Low Positive Control	1 vial (lyophilized)	white powder	2-8 °C Protect from light	12 months	3 months
Adhesive film for microwell plate	2 films	clear film	2-30 °C	N/A	N/A

Tablo 1. Kit Bileşenleri ve Depolama Önerileri

3.2 Gerekli Ancak Sağlanmamış Malzemeler

- Ayarlanabilir, otomatik mikropipetler (P200 ve P1000 veya benzeri)
- 8 veya 12 kanallı çoklu pipet, 50 µL, 100 µL (numune ve standart için) ve 300 µL (yıkama için, isteğe bağlı).
 - Tek kullanımlık pipet uçları
 - Masa üstü mikrosantrifüj (11.500 x g hızına çıkabilen)
 - Dereceli silindir (500 veya 1000 mL); vorteks; rack, mikrolate çalkalayıcısı (isteğe bağlı)
 - Çift damıtılmış su veya eşdeğeri veya daha yüksek kalite (örn., Milli-Q sınıfı)
 - Vakum pompası veya otomatik mikropipet yıkayıcı (isteğe bağlı)
 - Mikrolakaraştırıcı, 450 nm (0-3.0 ile minimum dinamik aralığı 0-3.5 önerilir) ayarlayın.
- Eş zamanlı olarak 600-650 nm'de (düzeltme dalga boyu)

4. ÖNEMLER

- Sadece in vitro diagnostik kullanımı içindir
- Bu yönergeleri tam olarak okuduktan ve anladıktan sonra kullanın.
- TMB çözeltisi, 3,3', 5,5'-tetrametil benzinin iheri; süpheli bir kanserojendir, Solunması ve göz ile temasında veya cilt ile temasında zararlıdır. Gözlük ve eldiven kullanın ve dikkatli tutun.
- Durdurma çözeltisi, 1N Hidroklorik asit (HCl) içermektedir. İçilememeli, teneffüs edilmemeli, göz veya cilt ile temas edilmemelidir. Gözlük, eldiven ve normal laboratuvar koruyucu giysileri giyin. Durdurma çözeltisi cilde veya gözlere temas ederse, normal çesme suyuyla durulayın ve tıbbi yardım isteyin. Konjuge Seyretici, alerjik reaksiyonlara neden olabilen sığır serum albümini içerir. Cilt ile temasından kaçının. İnsan kanerli potansiyel olarak bulaşıcı gibi davranır. İlgili kan giderme talimatlarına uyun. Gözlük kullanın, tek kullanımlık eldiven kullanın ve sonrasında ellerinizi kullandıktan sonra iyice yıkayın.
- Herhangi bir bileşen hasar görmüşse veya şişelerden birisinde sızıntı işareti gösteriyorsa kiti kullanmayın. Herhangi bir reaktif tüpünün, şişesinin veya insan numunelerinin kapagını açarken veya çıkarırken ve mikrobiyal kontaminasyonu önlemek için GLP prosedürlerini kullanın. Farklı kit partiküllerinin reaktiflerini / bileşenlerini karıştırmayın.
- Son kullanma tarihi geçmiş NK VUE ELISA bileşenlerini KULLANMAYIN.
- Bir ELISA yıkayıcı veya bir ELISA okuyucu gibi ekipman kullanırken, düzgün bir şekilde kalibre edildiğinden emin olun (Bu cihazların düzenli bir bakımlarını yaptırın)
- Numuneleri veya reaktifleri pipetlemek için tek kullanımlık pipet uçlarını kullanın. Pipetlerinizin kalibreli olduğuna emin olun.
- Katı atıkları, kullanılmayan reaktifleri ve biyolojik numuneleri ilgili görülen kurallara göre atınız. Genel laboratuvar güvenlik kurallarını takip edin.

5. TEST PROTOKOLÜ

- 5.1 Birinci Adım : Kan toplanması ve kültürü ve indüklenen plazmanın ayrılması
- NK VUE Tube içerisinde bir gece inkübe edilen kan örneğinin üzerindeki plazma kısmı alınır. Herhangi bir kontaminasyon olmasına dikkat edilmelidir. Ürün paketi ekine göre hazırlanmıştır.

5.2. İkinci Adım - İnsan IFN-γ ELISA testi

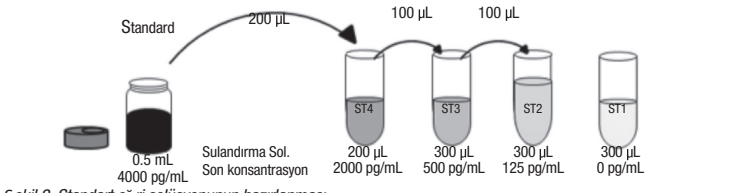
Önemli genel Tavsiyeler

- Tüm standartların ve numunelerin plate derhal yüklenebileceğinden emin olun (içinde 15 dakika). Yüklemler arasındaki uzun zaman aralığından kaçının. Örnek yüklemesinde uzun bekleme aralıklarından dolayı çalışmada önemli değişiklikler olabilir.
- Plazma örnekleri, antikor kaplı mikrolate stripler ve tüm reaktifler kullanıma başlamazdan hemen önce oda sıcaklığına getirilmelidir.
- ELISA kuyucuklarına plazma örneklerini yüklemeyizden önce dondurulmuş olan plazma örneklerinin tamamen eritildiğinden emin olun ve sonrasında oda sıcaklığında 1 dakika süreyle 11.500 g'de santrifüje edin.
- Kullanılmayacak olan mikrokuyucuk stripler derhal kurutucu folyo sarımalı ve çantasına geri konulmalıdır buzdolabında saklanmalıdır. Tekrar ihtiyacı duyulduğunda bu mikrokuyucuk stripler kullanılabilir.

20X olan yıkama çözeltisi 1:19 oranında saf su kullanılarak sulandırılmalıdır. Örneğin, 96 lik tam bir plate için toplam 1.000 µL 1X solüsyon yapmak; 20X lik konsantrte yıkama solüsyonundan 50 µL alınır ve 950 µL saf su içerisinde seyreltilir. Seyreltilmiş 1X lik yıkama solüsyonu ağız kapaklı bir şişede oda sıcaklığında 3 ay boyunca muhafaza edilebilir. Stok solüsyonda herhangi bir kristalleme oluşursa stok solüsyon şişesi 37 ° C'de (bu bir su banyosu olabilir veya inkübatör olabilir) (bir mikrodalga kullanmayın) bir süre bekletilecek kristallerin tekrar çözülmesi sağlanır. Liyofilize edilmiş IFN-γ standardını sulandırmak için double-distilled or higher grade) suyu ekleyin ve tamamen eriyene kadar karıştırın (nadiren dokunarak yaklaşık 10 dakika). Köpürmeyi en aza indirmek için pipet ile karıştırmayınız ve yüksek hızda vorteks yapmayınız. Strip üzerinde bulunan kuyucukları asla boş bırakmayın yada kurutmayın. Her zaman önceden hazırlanmış ve pipetlenecek olan bir sonraki solüsyonu hazır bulundurun.

Protokol:

1. Liyofilize olan tüm IFN-γ standartları; Yüksek Pozitif Kontrol ve Düşük Pozitif Kontrolün her bir şişesi sırasıyla 500 µL deiyonize veya damıtılmış su içerisinde çözülür. Köpüklenmeyi en aza indirmek ve tamamen çözündürmeyi sağlamak için hafifçe karıştırın. IFN-γ ların final konsantrasyonları; IFN-γ standardı için 4,000 pg/ mL, yüksek pozitif kontrol için 1,000 pg/mL ve düşük pozitif kontrol için 165 pg/ mL olacaktır. Bu üç solüsyondan 100-200 µL kadar bir kısmı her çalışma için kullanılacaktır. Geri kalan standart ve kontrollerin daha kullanılmak üzere saklanabilir. (-20 °C'de 3 aya kadar saklanabilir).
2. Ependorf tüplerini standart solüsyonlarını seyreltmek için #1 den #4 kadar numaralandırınız. Şekil 2 ve tablo 2 iki de görüldüğü gibi seri sulandırma yapınız. Sulandırma solüsyonundan şekilde de görüldüğü gibi 200 µL tüp # 4'e, 300 µL tüp 3'e 1'e koyunuz. IFN-γ stok standartından (4,000 pg/ mL) 200 µL alıp tüp # 4'e koyunuz ve iyice karıştırınız. Tüp # 4'e den 100 µL alarak # 3'e koyunuz ve iyice karıştırınız, Tüp # 3 den 100 µL alıp tüp #2 koyunuz ve iyice karıştırınız. Sakın # tüp 1 e sulandırma solüsyonundan başka bir şey koymayınız (tüp #1 (0 pg/mL). (Sulandırmanın nasıl yapıldığını ayrıca şekil2 ve tablo2 de de görebilirsiniz)

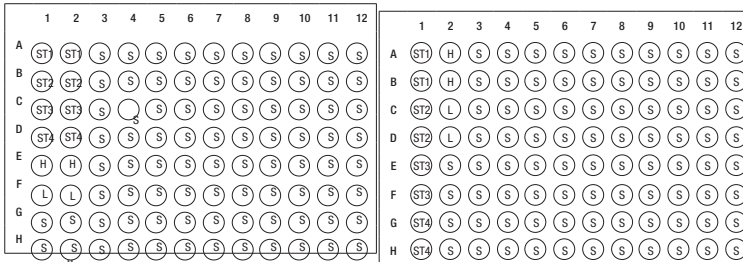


Şekil 2. Standart eğri solüsyonunun hazırlanması

Standard Sulandırma Metodu (standart aralığı = 0-2,000 pg/mL)				
ST	Diluent (µL)	Standard solüsyon	µl önceki sulandırmadan	Final standard Konsantrasyon (pg/mL)
1	300		0	0 (blank)
2	300		100	125
3	300		100	500
4	200		200	2000

Şekil 2. Standart eğri solüsyonunun hazırlanması

3. Hazırladığınız dört standart eğri seyreltme solüsyonunun (2,000 pg/mL - 0 pg/ mL) her birinden 2 kuyu ekleyiniz. Yüksek ve düşük kontrol solüsyonlarını da 2 şer kuyucuğa ekleyiniz. Geri kalan kuyucuklara da şekil 3 gösterildiği gibi örneklerinizi ekleyebilirsiniz.

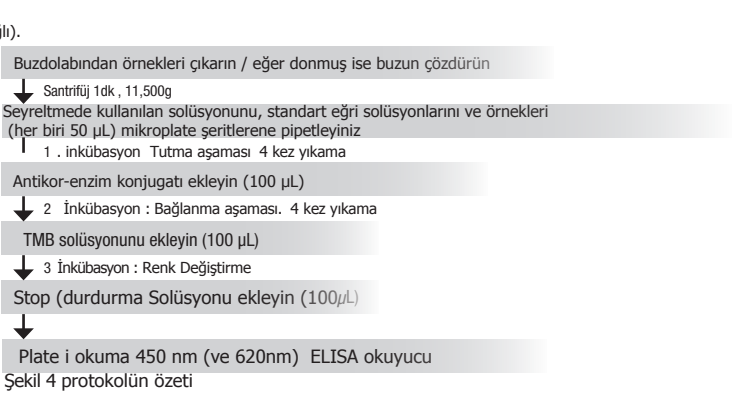


Şekil 3. Önerilen plate düzeni

ST: Standart eğri; H: yüksek positive kontrol; L: Düşük positive kontrol; S: Örnek

4. İlk önce her kuyucuğa 50 µL seyreltici koyun.
5. Hazırlanmış olduğunuz IFN-γ standart eğrisi solüsyonlarından, düşük kontrol solüsyonlarından, yüksek kontrol solüsyonlarından ve her bir örnekten 50 µL kuyucuklara ekleyiniz. Platin üzeri yapışkan film kapatınız. Kuyucuklara eklenmiş olduğunuz örneklerin daha iyi karışması için plate hafifçe vurunuz alternatif olarak, mikrolate çalkalayıcı bir dakika bekletiniz). Oda sıcaklığında 1 saat inkübe edin; Oda sıcaklığı 20 ° C ~ 24 ° C aralığında olmazsa, bir inkübatöre koyunuz. Tablo 3' de de gösterilmektedir.
6. Plate üzerindeki yapışkan filmi kaldırın ve kuyucuklardaki tüm sıvıyı aspire edin (vakum ile emdirin). Çok kanallı bir pipet ile her kuyucuğa 300 µL manifold dağıtıci veya otomatik bir plaka yıkayıcı kullanarak 300 µL 1X lik yıkama solüsyonundan koyunuz (aspirasyon öncesinde yıkama tamponu kuyucuklarda en az 5 saniye bekletin) ve kuyucukları 4 kez yıkayınız. Her yıkama adımında sıvının tamamen uzaklaştırıldığından emin olunuz. (NOT: Bu yıkama işlemi otomatik ELISA yıkayıcısıyla yapılabilir.) Son yıkamadan sonra, plakayı ters çevirerek ve temiz kuru kağıt havlu üzerine kuvvetlice vurarak kalan yıkama tamponunu uzaklaştırınız. 4. yıkama işlemine başlamak için temiz emici kağıt üzerinde nazikçe vurun. (Yani bir sonraki adıma bakın ve hazır olun).
7. Biyotin konjuge ve Streptavidin HRP leri 1:99 oranında karıştırarak Deteksiyon (algılama) solüsyonunu hazırlayın. Örneğin 10 mL hazırlamak için deteksiyon (algılama) solüsyonu hazırlamak için 9.8 mL Conjugate seyreltici solüsyon üzerine 100 µL Biotin konjugat ve 100 µL Streptavidin HRP'yi ekleyin ve karıştırın. Deteksiyon (Algılama) solüsyonunu kullanmadan hemen önce hazırlayınız.
8. Her kuyucuğa 100 µL deteksiyon (Algılama) solüsyonu (7. Aşamada hazırladığınız) ekleyin (adım 7'de hazırladığınız). Yapışkan filmi ile plate kapatınız ve oda sıcaklığında 1 saat 30 dakika inkübe ediniz; Oda sıcaklığı 20°C ~ 24 ° C aralığında değilse lütfen uygun bir inkübatör kullanın Tablo 3'e tavsiye edildiği gibi. Altıncı adımda olduğu gibi aspirasyon /yıkama işlemlerini tekrarlayın ve toplam 4 kez yıkama işlemi bu aşamada da yapılacaktır. Son yıkamadan sonra, plate i ters çevirin içinde kalan solüsyonları tamamiyle uzaklaştırmak için temiz emici kağıt üzerinde nazikçe vurun. . Son yıkama aşamasından önce, TMB solüsyonunu hazırlayın.
9. Altıncı adımda olduğu gibi aspirasyon /yıkama işlemlerini tekrarlayın ve toplam 4 kez yıkama işlemi bu aşamada da yapılacaktır. Son yıkamadan sonra, plate i ters çevirin içinde kalan solüsyonları tamamiyle uzaklaştırmak için temiz emici kağıt üzerinde nazikçe vurun. . Son yıkama aşamasından önce, TMB solüsyonunu hazırlayın.
10. Her kuyucuğa 100 µL TMB solüsyonu ekleyin. Oda sıcaklığında ve karanlıkta 30 dakika inkübe edin. •TMB solüsyonunu her zaman güçlü ışıktan veya güneş ışığından koruyun. En iyi tekrarlanabilirlik için her zaman tam 30 dakika inkübe edin.
11. Her kuyucuğa 100 µL durdurma (stop) solüsyonu ekleyin. Kuyucuklardaki renk maviden sarıya dönmelidir. •En iyi tekrarlanabilirlik için Durma (stop) solüsyonunu kuyucuklara eklenmesi sırasında 9. adımda belirtilen TMB solüsyonunu da aynı anda ve hızlıca kuyucuklara eklenmelidir. Kuyudaki renk yeşil renkte ise veya üniform görünmüyorsa, plate 1 nazikçe ve iyice karıştırmak için plakaya hafifçe vurun.
12. Plate altında kalıntı, nem, veya yabancı maddeleri gidermek için platin altını yumuşak emici kağıtlarla dikkatli bir şekilde silin ve 450 nm'ye ayarlanmış bir mikrolate okuyucu kullanarak derhal kuyucuklardaki örneklerin absorbsansını belirleyin. Düzeltme dalga boyu olarak 600-650 nm'de aynı anda okuması şiddetle tavsiye edilir. .

Stop Solüsyonu



Lab Sıcaklığı	1 İnkübasyon	2 İnkübasyon	3 İnkübasyon
15°C~19°C	1saat 30dk	1saat30dk	30dk
20°C~24°C	1saat	1saat30dk	30dk
25°C~37°C	1saat	1saat	30dk

Tablo 3. Lab sıcaklığı ve inkübasyon zamanı

6. HESAPLAMA VE SONUÇ ANALİZİ

- Mikrolate okuyucudan elde edilen tüm veriler MS Excel de veya yaygın istatistiksel yazılım programlarından GraphPad veya Sigma Plot programlarını kullanabilirsiniz.
- Tüm 450 nm okumalardan düzeltme dalga boyu (600-650 nm) değerlerini çıkarn.
 - 450 nm dalga boyunda ölçülen tüm standart ve örneklerin ortalama absorbsans değerlerini varyasyonlar arasında farkı hesaplayın.
 - CV nin yüzdelik değeri % 20 den büyük ise (örnek yeniden test edilmelidir) örneklerin çifti çalışılması yaygın bir pratiktir, ancak düşük konsantrasyonlu örnekler dışında dikkatli bir şekilde daha yüksek CV% tolere edilebilir. Sonraki analizler için çoğaltmaların yalnızca ortalama değerleri kullanılacaktır. Belirgin olarak daha yüksek CV% 'nin tolere edilebildiği durumda düşük konsantrasyonlu örnekler dışlanabilir. Sonraki analizler için tekrarların yalnızca ortalama değerleri kullanılacaktır.
 - Blank (0) örneğinin okumalardan çıkarmaya gerek yoktur; Blank (0) okumasını standart eğrinin oluşturulmasında kullanılması önerilir.

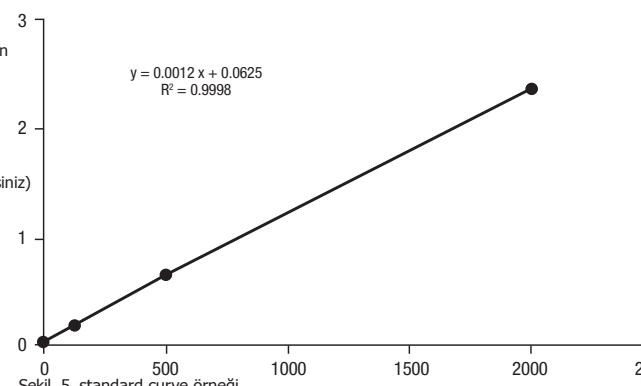
6.1 Standart eğri hesaplama

Standart eğri üzerinde doğrusal regresyon analizi yapın. Y eksenini pg/ mL cinsinden standart solüsyon konsantrasyonunu ve Y eksenini 450 nm'de (düzeltilmiş) absorbsansı gösterir. Standart eğrinin doğrusal gerilemesinin korelasyon katsayısı (R2) ≥ 0.98 olmalıdır. Standart eğri hesaplamasına ilişkin sayısal bir örnek aşağıda gösterilmiştir (bkz. Tablo 4). Örnekteki veriler (Tablo 4) ve standart eğrisi (Şekil 5) sadece örnekleme amacıyla verilmiştir ve diğer tahilllerdeki sonuçları hesaplamak için kullanılamaz.

ÖRNEK

onsantrasyon(pg/mL)		Absorbans (450nm) (Doğrulama blanked		
		Duplikasyon	CV%	
Standard 1	0 pg/mL	0.050	0.060	9.1
Standard 2	125 pg/mL	0.200	0.197	0.76
Standard 3	500 pg/mL	0.659	0.676	1.3
Standard 4	2000 pg/mL	2.366	2.418	1.1

Tablo 4. standart curve data örneği



Şekil 5. standard curve örneği

6.2 Kalite Kontrol

Test sonuçlarının doğruluğu, doğru bir standart eğrisinin oluşturulmasına bağlıdır. Bu ne sonuçları yorumlanabilmesi için standartlardan elde edilen sonuçlar tutarlı olmalıdır ELISA Geçerli Olabilmesi İçin;

- Standard 1'in ham absorbsans değeri (negative kontrol olmayan) ≤ 0.15 olmalıdır
- Standart 3'ün ham absorbsans değeri (negative kontrol olmayaz) ≥ 0.4 olmalıdır
- Standart 4'ün ham absorbsans değeri (negative kontrol olmayan) ≥ 1.7 olmalıdır
- Standart eğrinin doğrusal gerilemesinin korelasyon katsayısı (R2) ≥ 0.98 olmalıdır

Bu koşulları sağlanamaması halinde, test sonuçları geçerli değildir ve yeni bir test yapılmalıdır.

Not: Sulandırıldıktan sonra, yüksek ve düşük pozitif kontroller (HPC, ILPC) sırasıyla 1000 konsantrasyonlarında rekombinant insan IFN-γ içerir. Deneyisel olarak belirlenen çok-sp , ilgili kutuda bulunan onay belgesinde belirtilmiştir.

6.3 Numune Konsantrasyonunun Hesaplanması

Absorpsiyon değerlerinin ortalamasını ve doğrusal regresyon analizi ($y = ax + b$) ile olu kullanarak örneklerin konsantrasyonunu hesaplayın. Örneğin, ikincisi $y = 0.0012x + 0.1$ gösterildiği gibi) ise ve örnek ortalama absorbsansı 1.265 ise, örnek konsantrasyonu aşağı

- Örnek konsantrasyonu (pg/mL) = (numunenin ortalama absorbsansı - b)/a
- Örnek konsantrasyonu (pg/mL) = (1.265-0.0625)/0.0012 = 1002.08 (pg/ mL)

İpucu: Eğer bir numune IFN-γ konsantrasyonu > 2.000 pg/mL hassas konsantrasyona belirlemeye ihtiyaç vardır, Hasta plazma numunesini 1:10 oranında sulandırın ve EL çalışmasını tekrarlayın.

7. LIMIT

Aşağıdaki durumlarda, sonuçlar güvenilir olmayacaktır:

- Kanın alınması ve kültür edilmesi NK tüp kutusundaki tavsiyeler doğrultusunda yapılır

- ELISA testini gerçekleştirmek için bu paketin ekinde anlatılan prosedür doğru bir şek

8. PERFORMANS ÖZELLİKLERİ

Algılama Alt Sınırı: 40 pg/ mL

Deney Aralığı: 40-2000 pg/ mL

Standart eğri noktaları 2000, 500, 125 ve 0 pg/ mL IFN-γ'dır.

Hassasiyet: Testler arası hassasiyet, oturumlar arası, operatörler arası, laboratuvarlar arası parti olarak değerlendirildi. Elde edilen CV değerleri% 10'un altındaydı.

Spesifikliğı: Bu ELISA testi, insan IFN-γ için spesifiktir. İnsan IL1α, IL1β, IL2, IL3, IL4, IL15, GM-CSF, SCF, TNFα, G-CSF, LT-α'ya karşı belirgin çapraz reaktivite bulunamadı (XCL1, MIP-1α / CCL3, MCP-1 / CCL2, ve fare ILp, TNFα, IL2 ve IL15. Bu proteinlerin i plazma örneklerinin ELISA çalışmasını negative müdahalesi olmadı. İnsan albumin, bilir glüköz ve trigliseritler 150, 300 veya 500 pg/mL IFN-γ içeren plazma örneklerin ELISA müdahalesi olmadı

Kalibrasyon: Bu ELISA kutunda bulunan standartlar, NIAID rekombinant IFN-γ ile kalibre edilmiştir. lot Gxg01-902-535 Bir (1) pg IFN-γ Standartı = 0.018 NIAID birimi.

9. SORUN GİDERME

Problem	Mümkün olan neden	Çözüm
Düşük okuma Nedenleri	NK tüpü kan alınırsaya kadar oda ısısında uzun süre bırakılmış olduğundan ve Promoca nun inactive olmasından dolayı NK tüpüne kan alındıktan sonraki 15 dakika içinde 37°C lik inkübatöre konulmadiysa	Yeni bir NK tüpüne kan aldi
Spesifik olmayan renk gelişmesi/ Yüksek background	Tamamlanmamış veya kurallara uygun yapılmamış plate yıkaması Yapışkan filmin düzgün bir şekilde yapılandırılmaması ELISA kuyucuklarında karşılıklı kontaminasyon Kitin veya kit bileşenlerinin son kullanımı tarihlerinin geçmiş olması Kitin veya kit bileşenlerinin son kullanımı tarihlerinin geçmiş olması	ELISA kuyucuğa 300 µL yıkama s gelecek şekilde yıkama işleminin i ve yıkama sayısının tavsiye edild yapılması. Yıkama solüsyonunun i kadar kuyucuklarda bekletilmesi. çevirmek ve emici kağıda şiddetle yıkama tamponunu alın. Yapışkan filmin terar kullanılması örr arasında karşılıklı kontaminasyon risi (küçük damlacıklar film yüzeyinde k Yapışkan filmin uygun yapılandırılmad kuyucuk içerisindeki sıvılar uçmuş olat Örnekleri dikkatli bir şekilde mikrok pipetleyerek riski azaltılabilirsin Kitin son kullanımı tarihinin geçmediği ediniz. Dondurulmuş örnekler tekrar lı maldır. Örnekler çözülürldükten sonra Eğer solüsyonlar kuyucuklara ekledi önce mavı renkte ise solüsyonları
Standartlar için Düşük optikil yoğunluk okuması	Standard dilüsyonunda hata İnkübasyon sıcaklığının çok düşük olması yada inkübasyon zamanının kısa olması Solüsyonların sıcaklıklarının çok düşük olması	Kitin standartları ve dilüsyonlarının şekilde hazırlandığından ve kit pal içerisinde konulduğundan emin olu İnkübasyon sıcaklığının kontrol ediniz. sıcaklığın tablo 3 ile uyumlu olduğun olunuz. Substrat solüsyonu(TMB) tam dakika inkübe edilmelidir. Solüsyonları kullanmazdan hemen isısına getiriniz.
Lineer olmayan standar eğrisi. Tekrarlar arasında büyük değer farklarının oluşması	Doğru olmayan plate okuyucu filtrelerinin kullanılması Kitin veya kit bileşenlerinin son kullanımı tarihlerinin geçmiş olması	Plate 450nm de okunmalı Kitin son kullanımı tarihinin geçme emin olunuz.
	Tamamlanmamış veya kurallara uygun yapılmamış plate yıkaması Standard dilüsyonunda hata Pipetleme hatası Kötü karıştırma	ELISA kuyucuğa 300 µL yıkama solü şekilde yıkama işleminin tekrarlanması sayısının tavsiye edildiği sayda yapı solüsyonunun minimum 5 sn kadar k bekletilmesi. Plate i kurutma kağıdını çevirin ve kalan yıkama solüsyonunu Kit standardının dilüsyonlarının Pı göre hazırlandığından emin olun Pipetlerin kalibre edildiğinden ve ü talimatlarına göre kullanıldığından Reagentları plate almadan veya e önce iyice karıştırın

10. TEKNİK SERVİS

For customer technical service please contact:

Manufacturer : ATGen
SNUH HIP 4F and 6F
172 Dolma-ro, Bundang-gu
Seongnam-si, Gyeonggi-do 13605
Tel: 82-31-603-9212
Fax: 82-31-8017-8124
www.nkvue.com

Authorized Represen
Emergo Europe
Prinsessegracht 20
2514 AP The Hague