

УТВЕРЖДАЮ

Генеральный директор
ООО «Эко-мед-с М»

Ворошилов Н.А.

«10» июля 2010 г



ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

Реагенты и расходные материалы к оборудованию для электрофореза в наборах и отдельных упаковках

1. НАЗНАЧЕНИЕ
2. ОСНОВНЫЕ ТЕХНИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ
3. ПРОТИВОПОКАЗАНИЯ К ПРИМЕНЕНИЮ
4. ПОДГОТОВКА К РАБОТЕ ИЗДЕЛИЯ
5. ПОРЯДОК РАБОТЫ ИЗДЕЛИЯ
6. ПРАВИЛА ХРАНЕНИЯ И ИСПОЛЬЗОВАНИЯ

2010

Агароза для молекулярной биологии - Molecular Biology Grade Agarose

НАЗНАЧЕНИЕ

Агароза для молекулярной биологии предназначена для молекулярного скрининга с улучшенным разрешением ДНК фрагментов размером 500 и менее п.о. Особенно подходит для разделения фрагментов размером сопоставимым с размерами праймеров. 3%-ый агарозный гель, выполненный из агарозы, даёт разрешение фрагментов аналогичное 8% полиакриламидному гелю.

СВОЙСТВА

Характеристики	Значение
Мутность 1,5% (NTU)	< 4
Электроосмотическая (ЕЕО)	< 4
Содержание серы в виде SO ₄	0,12%
Температура гелеобразования (1,5%)	24 - 28 С
Температура плавления (1,5%)	> 65,5 С
Плотность геля (1 %)	> 500 г/см ³
Плотность геля (1,5 %)	> 500 г/см ³
Наличие ДНКаз	отсутствует
Наличие РНКаз	отсутствует

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Все реагенты предназначены только для диагностического использования в условиях *in-vitro*. Необходимо надевать перчатки при работе со всеми компонентами набора. См. паспорт безопасности химического вещества, положения о рисках и обеспечении безопасности, а также информацию об утилизации.

СОСТАВ

1. Агароза

Пакеты по 50 или 100 грамм.

УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И СРОК ГОДНОСТИ

Хранить в сухом прохладном месте при температуре 15-25 °С, в этом случае она сохраняет стабильность до окончания срока годности, указанного на ярлыке.

ПРИМЕНЕНИЕ

Применяется для приготовления гелей, обладает высоким разрешением маленьких продуктов ПЦР и ДНК фрагментов благодаря повышенной прозрачности геля, обеспечивает плотную пластичную структуру гелю. Шансы растрескивания или поломки такого геля минимальны даже при низких концентрациях. Идеально подходит для проведения иммуноблоттинга. Низкое связывание ДНК позволяет быстро высвободиться из геля.



Тел. +44 (0)191 482 8440
Факс +44 (0)191 482 8442
Эл. почта info@helena-biosciences.com
www.helena-biosciences.com

Helena Biosciences Europe Queensway South,
Team Valley Trading Estate, Gateshead,
Tyne and Wear, NE11 0SD, United Kingdom

Антисыворотка GAM - GAM Antiserum.

НАЗНАЧЕНИЕ

Антисыворотка GAM предназначена для скрининга образцов сыворотки и мочи на моноклональные гаммопатии методом электрофореза в агарозном геле и иммунофиксации. Электрофорез с иммунофиксацией (IFE) – это двухступенчатая процедура, использующая электрофорез высокого разрешения в агарозном геле на первом этапе и иммунофиксацию на втором этапе.

Наибольшая потребность в IFE присутствует в клинических лабораториях, где метод используется в первую очередь для определения моноклональных гаммопатий. Моноклональная гаммопатия - это первичное состояние заболевания, при котором один клон клеток плазмы производит повышенные уровни иммуноглобулина определенного класса и типа. Такие иммуноглобулины называют моноклональными белками, М-белками или парапротеинами. Их присутствие может носить неопасный характер или иметь сомнительное значение. В некоторых случаях они указывают на злокачественное развитие заболевания, например множественная миелома или макроглобулинемия Вальденстрема. Следует дифференцировать поликлональную и моноклональную гаммопатию, так как поликлональные гаммопатии представляют собой вторую стадию заболевания, обусловленную клиническими нарушениями, такими как хроническое заболевание печени, коллагеновые нарушения, ревматический артрит и хроническая инфекция.

Белки мочи образуются в первую очередь на основе белков плазмы, которые фильтруются почками. Присутствие аномальных белков плазмы в моче имеет важнейшее значение при оценке почечной функции. Соответствующее исследование протеинурии должно включать количественную и качественную оценки типов и количества выделяемых белков.¹⁻⁵

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Все реагенты предназначены только для диагностического использования в условиях in vitro. Не глотать и не пипетировать ртом ни один компонент набора. Надевать перчатки при работе со всеми компонентами набора. См. паспорт безопасности химического вещества, положения о рисках и обеспечении безопасности, а также информацию об утилизации.

СОСТАВ

1. Антисыворотка GAM

Состав: в набор входит 1 флакон содержащий 2 ml трехвалентной сыворотки, которая содержит антитела к тяжелым цепям человеческих иммуноглобулинов - IgG, IgM, IgA. Сыворотки были приготовлены из биологического материала (кровь козы) и содержат стабилизаторы и азид натрия в качестве консерванта.

2. Другие компоненты набора

Каждый набор содержит инструкцию по применению.

УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И СРОК ГОДНОСТИ

Антисыворотку GAM следует хранить при 2-6°C, и она стабильна до истечения срока годности, указанного на этикетке. Открытые флаконы, стабильные в течение 4 недель.

ПРИМЕНЕНИЕ

Антисыворотка используется только с оборудованием и гелями производства компании Helena. Пошаговая инструкция приведена в руководстве к анализаторам.



Тел. +44 (0)191 482 8440
Факс +44 (0)191 482 8442
Эл. почта info@helena-biosciences.com

www.helena-biosciences.com

Helena Biosciences Europe Queensway South,
Team Valley Trading Estate, Gateshead,
Tyne and Wear, NE11 0SD, United Kingdom

Антисыворотка к белкам мочи - Urine Total Antiserum.

НАЗНАЧЕНИЕ

Антисыворотка к белкам мочи применяется для демонстрации эталонной разгонки всех фракции белков в моче. В дальнейшем электрофореграмму с общей антисывороткой к белкам в моче будут сравнивать с пробами мочи, в которые добавлена антисыворотка к определенным тяжелым или легким цепям. Антисыворотка к белкам мочи выполняет ту же роль, что и фиксирующий раствор при иммунофиксации сыворотки, только является более чувствительной по сравнению с фиксирующим раствором.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Все реагенты предназначены только для диагностического использования в условиях *in vitro*. Не глотать и не пипетировать ртом ни один компонент набора. Надевать перчатки при работе со всеми компонентами набора. См. паспорт безопасности химического вещества, положения о рисках и обеспечении безопасности, а также информацию об утилизации.

СОСТАВ

1. Антисыворотка к белкам мочи

Состав: в набор входит 1 флакон содержащий 2 ml антисыворотки к белкам.

2. Другие компоненты набора

Каждый набор содержит инструкцию по применению.

УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И СРОК ГОДНОСТИ

Антисыворотку следует хранить при 2-6°C, и она стабильна до истечения срока годности, указанного на этикетке. Открытые флаконы, стабильные в течение 4 недель.

ПРИМЕНЕНИЕ

Антисыворотка используется только с оборудованием и гелями производства компании Helena. Пошаговая инструкция приведена в руководстве к анализаторам.



Тел. +44 (0)191 482 8440
Факс +44 (0)191 482 8442
Эл. почта info@helena-biosciences.com
www.helena-biosciences.com

Helena Biosciences Europe Queensway South,
Team Valley Trading Estate, Gateshead,
Tyne and Wear, NE11 0SD, United Kingdom

Антисыворотка к каппа-цепям иммуноглобулинов - Кappa Antiserum.

НАЗНАЧЕНИЕ

Антисыворотка к каппа-цепям предназначена для скрининга образцов сыворотки и мочи на моноклональные гаммопатии методом электрофореза в агарозном геле и иммунофиксации. Электрофорез с иммунофиксацией (IFE) – это двухступенчатая процедура, использующая электрофорез высокого разрешения в агарозном геле на первом этапе и иммунофиксацию на втором этапе.

Наибольшая потребность в IFE присутствует в клинических лабораториях, где метод используется в первую очередь для определения моноклональных гаммопатий. Моноклональная гаммопатия - это первичное состояние заболевания, при котором один клон клеток плазмы производит повышенные уровни иммуноглобулина определенного класса и типа. Такие иммуноглобулины называют моноклональными белками, М-белками или парапротеинами. Их присутствие может носить неопасный характер или иметь сомнительное значение. В некоторых случаях они указывают на злокачественное развитие заболевания, например множественная миелома или макроглобулинемия Вальденстрема. Следует дифференцировать поликлональную и моноклональную гаммопатию, так как поликлональные гаммопатии представляют собой вторую стадию заболевания, обусловленную клиническими нарушениями, такими как хроническое заболевание печени, коллагеновые нарушения, ревматический артрит и хроническая инфекция.

Белки мочи образуются в первую очередь на основе белков плазмы, которые фильтруются почками. Присутствие аномальных белков плазмы в моче имеет важнейшее значение при оценке почечной функции. Соответствующее исследование протеинурии должно включать количественную и качественную оценки типов и количества выделяемых белков.¹⁻⁵

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Все реагенты предназначены только для диагностического использования в условиях *in-vitro*. Не глотать и не пипетировать ртом ни один компонент набора. Надевать перчатки при работе со всеми компонентами набора. См. паспорт безопасности химического вещества, положения о рисках и обеспечении безопасности, а также информацию об утилизации.

СОСТАВ

1. Антисыворотка к каппа-цепям

Состав: в набор входит 1 флакон содержащий 2 ml сыворотки, которая содержит антитела к легким цепям человеческих иммуноглобулинов - каппа-цепям. Сыворотки были приготовлены из биологического материала (кровь козы) и содержат стабилизаторы и азид натрия в качестве консерванта.

2. Другие компоненты набора

Каждый набор содержит инструкцию по применению.

УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И СРОК ГОДНОСТИ

Антисыворотка к каппа-цепям следует хранить при 2-6°C, и она стабильна до истечения срока годности, указанного на этикетке. Открытые флаконы, стабильные в течение 4 недель.

ПРИМЕНЕНИЕ

Антисыворотка используется только с оборудованием и гелями производства компании Helena. Пошаговая инструкция приведена в руководстве к анализаторам.



Тел. +44 (0)191 482 8440
Факс +44 (0)191 482 8442
Эл. почта info@helena-biosciences.com
www.helena-biosciences.com

Helena Biosciences Europe Queensway South,
Team Valley Trading Estate, Gateshead,
Tyne and Wear, NE11 0SD, United Kingdom

Антисыворотка к лямбда-цепям иммуноглобулинов - Lambda Antiserum.

НАЗНАЧЕНИЕ

Антисыворотка к лямбда-цепям предназначена для скрининга образцов сыворотки и мочи на моноклональные гаммопатии методом электрофореза в агарозном геле и иммунофиксации.

Электрофорез с иммунофиксацией (IFE) – это двухступенчатая процедура, использующая электрофорез высокого разрешения в агарозном геле на первом этапе и иммунофиксацию на втором этапе.

Наибольшая потребность в IFE присутствует в клинических лабораториях, где метод используется в первую очередь для определения моноклональных гаммопатий. Моноклональная гаммопатия - это первичное состояние заболевания, при котором один клон клеток плазмы производит повышенные уровни иммуноглобулина определенного класса и типа. Такие иммуноглобулины называют моноклональными белками, М-белками или парапротеинами. Их присутствие может носить неопасный характер или иметь сомнительное значение. В некоторых случаях они указывают на злокачественное развитие заболевания, например множественная миелома или макроглобулинемия Вальденстрема. Следует дифференцировать поликлональную и моноклональную гаммопатию, так как поликлональные гаммопатии представляют собой вторую стадию заболевания, обусловленную клиническими нарушениями, такими как хроническое заболевание печени, коллагеновые нарушения, ревматический артрит и хроническая инфекция.

Белки мочи образуются в первую очередь на основе белков плазмы, которые фильтруются почками. Присутствие аномальных белков плазмы в моче имеет важнейшее значение при оценке почечной функции. Соответствующее исследование протеинурии должно включать количественную и качественную оценки типов и количества выделяемых белков.¹⁻⁵

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Все реагенты предназначены только для диагностического использования в условиях *in vitro*. Не глотать и не пипетировать ртом ни один компонент набора. Надевать перчатки при работе со всеми компонентами набора. См. паспорт безопасности химического вещества, положения о рисках и обеспечении безопасности, а также информацию об утилизации.

СОСТАВ

1. Антисыворотка к лямбда-цепям

Состав: в набор входит 1 флакон содержащий 2 ml сыворотки, которая содержит антитела к легким цепям человеческих иммуноглобулинов - лямбда-цепям. Сыворотки были приготовлены из биологического материала (кровь козы) и содержат стабилизаторы и азид натрия в качестве консерванта.

2. Другие компоненты набора

Каждый набор содержит инструкцию по применению.

УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И СРОК ГОДНОСТИ

Антисыворотка к лямбда-цепям следует хранить при 2-6°C, и она стабильна до истечения срока годности, указанного на этикетке. Открытые флаконы, стабильные в течение 4 недель.

ПРИМЕНЕНИЕ

Антисыворотка используется только с оборудованием и гелями производства компании Helena. Пошаговая инструкция приведена в руководстве к анализаторам.



Тел. +44 (0)191 482 8440
Факс +44 (0)191 482 8442
Эл. почта info@helena-biosciences.com

www.helena-biosciences.com

Helena Biosciences Europe Queensway South,
Team Valley Trading Estate, Gateshead,
Tyne and Wear, NE11 0SD, United Kingdom

Антисыворотка к макрофракции белков мочи - Urine Macro Antiserum

НАЗНАЧЕНИЕ

Антисыворотка к макрофракции белков мочи применяется для диагностики повреждений гломерулярной (клубочковой) структуры при заболеваниях почек.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Все реагенты предназначены только для диагностического использования в условиях *in-vitro*. Не глотать и не пипетировать ртом ни один компонент набора. Надевать перчатки при работе со всеми компонентами набора. См. паспорт безопасности химического вещества, положения о рисках и обеспечении безопасности, а также информацию об утилизации.

СОСТАВ

1. Антисыворотка к макрофракции белков мочи

Состав: в набор входит 1 флакон, содержащий 2 ml антисыворотки к макрофракции белков мочи. Антисыворотка содержит антитела к трансферрину и альфа-1-антитрипсину.

2. Другие компоненты набора

Каждый набор содержит инструкцию по применению.

УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И СРОК ГОДНОСТИ

Антисыворотку следует хранить при 2-6°C, и она стабильна до истечения срока годности, указанного на этикетке. Открытые флаконы, стабильные в течение 4 недель.

ПРИМЕНЕНИЕ

Антисыворотка используется только с оборудованием и гелями производства компании Helena. Пошаговая инструкция приведена в руководстве к анализаторам.



Тел. +44 (0)191 482 8440
Факс +44 (0)191 482 8442
Эл. почта info@helena-biosciences.com
www.helena-biosciences.com

Helena Biosciences Europe Queensway South,
Team Valley Trading Estate, Gateshead,
Tyne and Wear, NE11 0SD, United Kingdom

Антисыворотка к микрофракции белков мочи - Urine Micro Antiserum.

НАЗНАЧЕНИЕ

Антисыворотка к микрофракции белков мочи применяется для диагностики повреждения почечных канальцев при заболеваниях почек.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Все реагенты предназначены только для диагностического использования в условиях *in-vitro*. Не глотать и не пипетировать ртом ни один компонент набора. Надевать перчатки при работе со всеми компонентами набора. См. паспорт безопасности химического вещества, положения о рисках и обеспечении безопасности, а также информацию об утилизации.

СОСТАВ

1. Антисыворотка к микрофракции белков мочи

Состав: в набор входит 1 флакон, содержащий 2 ml антисыворотки к микрофракции белков мочи. Антисыворотка содержит антитела к ретинол связывающему белку и бета-2-микроглобулину.

2. Другие компоненты набора

Каждый набор содержит инструкцию по применению.

УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И СРОК ГОДНОСТИ

Антисыворотку следует хранить при 2-6°C, и она стабильна до истечения срока годности, указанного на этикетке. Открытые флаконы, стабильные в течение 4 недель.

ПРИМЕНЕНИЕ

Антисыворотка используется только с оборудованием и гелями производства компании Helena. Пошаговая инструкция приведена в руководстве к анализаторам.



Тел. +44 (0)191 482 8440
Факс +44 (0)191 482 8442
Эл. почта info@helena-biosciences.com
www.helena-biosciences.com

Helena Biosciences Europe Queensway South,
Team Valley Trading Estate, Gateshead,
Tyne and Wear, NE11 0SD, United Kingdom

Антисыворотка к свободным каппа-цепям - Free Kappa Antiserum.

НАЗНАЧЕНИЕ

Антисыворотка к свободным каппа-цепям предназначена для скрининга образцов сыворотки и мочи на моноклональные гаммопатии методом электрофореза в агарозном геле и иммунофиксации.

Электрофорез с иммунофиксацией (IFE) – это двухступенчатая процедура, использующая электрофорез высокого разрешения в агарозном геле на первом этапе и иммунофиксацию на втором этапе.

Наибольшая потребность в IFE присутствует в клинических лабораториях, где метод используется в первую очередь для определения моноклональных гаммопатий. Моноклональная гаммопатия - это первичное состояние заболевания, при котором один клон клеток плазмы производит повышенные уровни иммуноглобулина определенного класса и типа. Такие иммуноглобулины называют моноклональными белками, М-белками или парапротеинами. Их присутствие может носить неопасный характер или иметь сомнительное значение. В некоторых случаях они указывают на злокачественное развитие заболевания, например множественная миелома или макроглобулинемия Вальденстрема. Следует дифференцировать поликлональную и моноклональную гаммопатию, так как поликлональные гаммопатии представляют собой вторую стадию заболевания, обусловленную клиническими нарушениями, такими как хроническое заболевание печени, коллагеновые нарушения, ревматический артрит и хроническая инфекция.

Белки мочи образуются в первую очередь на основе белков плазмы, которые фильтруются почками. Присутствие аномальных белков плазмы в моче имеет важнейшее значение при оценке почечной функции. Соответствующее исследование протеинурии должно включать количественную и качественную оценки типов и количества выделяемых белков.¹⁻⁵

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Все реагенты предназначены только для диагностического использования в условиях *in vitro*. Не глотать и не пипетировать ртом ни один компонент набора. Надевать перчатки при работе со всеми компонентами набора. См. паспорт безопасности химического вещества, положения о рисках и обеспечении безопасности, а также информацию об утилизации.

СОСТАВ

1. Антисыворотка к свободным каппа-цепям

Состав: в набор входит 1 флакон содержащий 2 ml антисыворотки, которая содержит антитела к человеческим иммуноглобулинам – легкую фракцию к свободным каппа-цепям. Сыворотка была приготовлена из биологического материала (кровь козы) и содержат стабилизаторы и азид натрия в качестве консерванта.

2. Другие компоненты набора

Каждый набор содержит инструкцию по применению.

УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И СРОК ГОДНОСТИ

Антисыворотку следует хранить при 2-6°C, и она стабильна до истечения срока годности, указанного на этикетке. Открытые флаконы, стабильные в течение 4 недель.

ПРИМЕНЕНИЕ

Антисыворотка используется только с оборудованием и гелями производства компании Helena. Пошаговая инструкция приведена в руководстве к анализаторам.



Тел. +44 (0)191 482 8440
Факс +44 (0)191 482 8442
Эл. почта info@helena-biosciences.com

www.helena-biosciences.com

Helena Biosciences Europe Queensway South,
Team Valley Trading Estate, Gateshead,
Tyne and Wear, NE11 0SD, United Kingdom

Антисыворотка к свободным лямбда-цепям - Free Lambda Antiserum.

НАЗНАЧЕНИЕ

Антисыворотка к свободным лямбда-цепям предназначена для скрининга образцов сыворотки и мочи на моноклональные гаммопатии методом электрофореза в агарозном геле и иммунофиксации.

Электрофорез с иммунофиксацией (IFE) – это двухступенчатая процедура, использующая электрофорез высокого разрешения в агарозном геле на первом этапе и иммунофиксацию на втором этапе.

Наибольшая потребность в IFE присутствует в клинических лабораториях, где метод используется в первую очередь для определения моноклональных гаммопатий. Моноклональная гаммопатия - это первичное состояние заболевания, при котором один клон клеток плазмы производит повышенные уровни иммуноглобулина определенного класса и типа. Такие иммуноглобулины называют моноклональными белками, М-белками или парапротейнами. Их присутствие может носить неопасный характер или иметь сомнительное значение. В некоторых случаях они указывают на злокачественное развитие заболевания, например множественная миелома или макроглобулинемия Вальденстрема. Следует дифференцировать поликлональную и моноклональную гаммопатию, так как поликлональные гаммопатии представляют собой вторую стадию заболевания, обусловленную клиническими нарушениями, такими как хроническое заболевание печени, коллагеновые нарушения, ревматический артрит и хроническая инфекция.

Белки мочи образуются в первую очередь на основе белков плазмы, которые фильтруются почками. Присутствие аномальных белков плазмы в моче имеет важнейшее значение при оценке почечной функции. Соответствующее исследование протеинурии должно включать количественную и качественную оценки типов и количества выделяемых белков.¹⁻⁵

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Все реагенты предназначены только для диагностического использования в условиях *in-vitro*. Не глотать и не пипетировать ртом ни один компонент набора. Надевать перчатки при работе со всеми компонентами набора. См. паспорт безопасности химического вещества, положения о рисках и обеспечении безопасности, а также информацию об утилизации.

СОСТАВ

1. Антисыворотка к свободным лямбда-цепям

Состав: в набор входит 1 флакон содержащий 2 ml сыворотки, которая содержит антитела к свободным легким цепям человеческих иммуноглобулинов лямбда-цепям. Сыворотки были приготовлены из биологического материала (кровь козы) и содержат стабилизаторы и азид натрия в качестве консерванта.

2. Другие компоненты набора

Каждый набор содержит инструкцию по применению.



Тел. +44 (0)191 482 8440
Факс +44 (0)191 482 8442
Эл. почта info@helena-biosciences.com
www.helena-biosciences.com

Helena Biosciences Europe Queensway South,
Team Valley Trading Estate, Gateshead,
Tyne and Wear, NE11 0SD, United Kingdom

УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И СРОК ГОДНОСТИ

Антисыворотка к свободным лямбда-цепям следует хранить при 2-6°C, и она стабильна до истечения срока годности, указанного на этикетке. Открытые флаконы, стабильные в течение 4 недель.

ПРИМЕНЕНИЕ

Антисыворотка используется только с оборудованием и гелями производства компании Helena. Пошаговая инструкция приведена в руководстве к анализаторам.



Тел. +44 (0)191 482 8440
Факс +44 (0)191 482 8442
Эл. почта info@helena-biosciences.com

www.helena-biosciences.com

Helena Biosciences Europe Queensway South,
Team Valley Trading Estate, Gateshead,
Tyne and Wear, NE11 0SD, United Kingdom

Антисыворотка пентавалентная - Penta Antiserum.

НАЗНАЧЕНИЕ

Антисыворотка пентавалентная предназначена для скрининга образцов сыворотки и мочи на моноклональные гаммопатии методом электрофореза в агарозном геле и иммунофиксации.

Электрофорез с иммунофиксацией (IFE) – это двухступенчатая процедура, использующая электрофорез высокого разрешения в агарозном геле на первом этапе и иммунофиксацию на втором этапе.

Наибольшая потребность в IFE присутствует в клинических лабораториях, где метод используется в первую очередь для определения моноклональных гаммопатий. Моноклональная гаммопатия - это первичное состояние заболевания, при котором один клон клеток плазмы производит повышенные уровни иммуноглобулина определенного класса и типа. Такие иммуноглобулины называют моноклональными белками, М-белками или парапротеинами. Их присутствие может носить неопасный характер или иметь сомнительное значение. В некоторых случаях они указывают на злокачественное развитие заболевания, например множественная миелома или макроглобулинемия Вальденстрема. Следует дифференцировать поликлональную и моноклональную гаммопатию, так как поликлональные гаммопатии представляют собой вторую стадию заболевания, обусловленную клиническими нарушениями, такими как хроническое заболевание печени, коллагеновые нарушения, ревматический артрит и хроническая инфекция.

Белки мочи образуются в первую очередь на основе белков плазмы, которые фильтруются почками. Присутствие аномальных белков плазмы в моче имеет важнейшее значение при оценке почечной функции. Соответствующее исследование протеинурии должно включать количественную и качественную оценки типов и количества выделяемых белков.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Все реагенты предназначены только для диагностического использования в условиях *in-vitro*. Не глотать и не пипетировать ртом ни один компонент набора. Надевать перчатки при работе со всеми компонентами набора. См. паспорт безопасности химического вещества, положения о рисках и обеспечении безопасности, а также информацию об утилизации.

СОСТАВ

1. Пентавалентная сыворотка

Состав: в набор входит 1 флакон содержащий 2 ml пентавалентной сыворотки, которая содержит антитела к человеческим иммуноглобулинам: тяжелые цепи - IgG, IgM, IgA и легкие цепи - Каппа и Лямбда, как в свободном, так и в связанном виде. Сыворотки были приготовлены из биологического материала (кровь козы) и содержат стабилизаторы и азид натрия в качестве консерванта.

2. Другие компоненты набора

Каждый набор содержит инструкцию по применению.

**УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И СРОК ГОДНОСТИ**

Пентавалентную сыворотку следует хранить при 2-6°C, и она стабильна до истечения срока годности, указанного на этикетке. Открытые флаконы, стабильные в течение 4 недель.

ПРИМЕНЕНИЕ

Пентавалентная Антисыворотка используется только с оборудованием и гелями производства компании Helena. Пошаговая инструкция приведена в руководстве к анализаторам.



Тел. +44 (0)191 482 8440
Факс +44 (0)191 482 8442
Эл. почта info@helena-biosciences.com

www.helena-biosciences.com

Helena Biosciences Europe Queensway South,
Team Valley Trading Estate, Gateshead,
Tyne and Wear, NE11 0SD, United Kingdom

Антисыворотка пентавалентная к альбумину - Urine PENT/ALB Antiserum **НАЗНАЧЕНИЕ**

Антисыворотка пентавалентная к альбумину применяется для проведения предварительного скрининга с целью сокращения количества отрицательных иммунофиксаций. Используется только для работы с мочой.

Электрофорез с иммунофиксацией (IFE) – это двухступенчатая процедура, использующая электрофорез высокого разрешения в агарозном геле на первом этапе и иммунофиксацию на втором этапе.

Наибольшая потребность в IFE присутствует в клинических лабораториях, где метод используется в первую очередь для определения моноклональных гаммопатий. Моноклональная гаммопатия - это первичное состояние заболевания, при котором один клон клеток плазмы производит повышенные уровни иммуноглобулина определенного класса и типа. Такие иммуноглобулины называют моноклональными белками, М-белками или парапротеинами. Их присутствие может носить неопасный характер или иметь сомнительное значение. В некоторых случаях они указывают на злокачественное развитие заболевания, например множественная миелома или макроглобулинемия Вальденстрема. Следует дифференцировать поликлональную и моноклональную гаммопатию, так как поликлональные гаммопатии представляют собой вторую стадию заболевания, обусловленную клиническими нарушениями, такими как хроническое заболевание печени, коллагеновые нарушения, ревматический артрит и хроническая инфекция.

Белки мочи образуются в первую очередь на основе белков плазмы, которые фильтруются почками. Присутствие аномальных белков плазмы в моче имеет важнейшее значение при оценке почечной функции. Соответствующее исследование протеинурии должно включать количественную и качественную оценки типов и количества выделяемых белков.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Все реагенты предназначены только для диагностического использования в условиях *in vitro*. Не глотать и не пипетировать ртом ни один компонент набора. Надевать перчатки при работе со всеми компонентами набора. См. паспорт безопасности химического вещества, положения о рисках и обеспечении безопасности, а также информацию об утилизации.

СОСТАВ

1. Антисыворотка пентавалентная к альбумину

Состав: в набор входит 1 флакон, содержащий 2 ml антисыворотки пентавалентной к альбумину. Антисыворотка содержит антитела к человеческому альбумину, а также антитела к человеческим иммуноглобулинам: тяжелые цепи - IgG, IgM, IgA и легкие цепи - Каппа и Лямбда, как в свободном, так и в связанном виде.

2. Другие компоненты набора

Каждый набор содержит инструкцию по применению.

УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И СРОК ГОДНОСТИ

Антисыворотку следует хранить при 2-6°C, и она стабильна до истечения срока годности, указанного на этикетке. Открытые флаконы, стабильные в течение 4 недель.

ПРИМЕНЕНИЕ

Антисыворотка используется только с оборудованием и гелями производства компании Helena. Пошаговая инструкция приведена в руководстве к анализаторам.



Тел. +44 (0)191 482 8440
Факс +44 (0)191 482 8442
Эл. почта info@helena-biosciences.com

www.helena-biosciences.com

Helena Biosciences Europe Queensway South,
Team Valley Trading Estate, Gateshead,
Tyne and Wear, NE11 0SD, United Kingdom

Одноразовые аппликаторы (10 x 12, 50 x 12, 10 x 20, 50 x 20) для SAS-1, SAS-3 - SAS-1, SAS-3 - APPLICATORS disposable (10 X 12, 50 X 12, 10 X 20, 50 x 20).

ПРИМЕНЕНИЕ

Одноразовые аппликаторы, предназначены для нанесения образцов на гели агарозы до начала проведения электрофореза.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Одноразовые аппликаторы не пригодны для повторного использования и должны быть после использования утилизированы надлежащим образом. Компания Helena Biosciences не несет ответственности за ошибочные результаты, полученные при использовании аппликаторов более одного раза.

СОСТАВ

1. Одноразовые аппликаторы

- a. Cat. No. 210200 10 x 12 Одноразовые аппликаторы
- b. Cat. No. 210300 50 x 12 Одноразовые аппликаторы
- c. Cat. No. 310200 10 x 20 Одноразовые аппликаторы
- d. Cat. No. 310300 50 x 20 Одноразовые аппликаторы

2. Другие компоненты набора

Каждая упаковка содержит инструкцию по применению.

УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И СРОК ГОДНОСТИ

Одноразовые аппликаторы готовы к использованию в упакованном виде. Аппликаторы должны храниться при температуре 15 ... 30 ° C и стабильны в этих условиях в течение неопределенного периода времени.

Предметы, необходимые, но не поставляемые

Этот продукт может использоваться только с оборудованием компании Helena Biosciences Europe SAS-1 и/или SAS-3.

Пробоподготовка

Аппликаторы защищены от повреждений защитной лопастью, перед использованием сломайте ее и вставьте аппликатор в соответствующую ячейку на анализаторе (SAS1/SAS3).

ПОШАГОВАЯ ПРОЦЕДУРА

Информация об использовании аппликаторов приведена в инструкциях к реагентам.



Тел. +44 (0)191 482 8440
Факс +44 (0)191 482 8442
Эл. почта info@helena-biosciences.com
www.helena-biosciences.com

Helena Biosciences Europe Queensway South,
Team Valley Trading Estate, Gateshead,
Tyne and Wear, NE11 0SD, United Kingdom

helena

Буфер для прибора V8 - V8 Storage buffer.**НАЗНАЧЕНИЕ**

Буфер для прибора V8 применяется для проведения анализа методом капиллярного электрофореза на системе V-8 производства компании Helena (UK).

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Все реагенты предназначены только для диагностического использования в условиях *in-vitro*. Не глотать и не пипетировать ртом ни один компонент набора. Надевать перчатки при работе со всеми компонентами набора. См. паспорт безопасности химического вещества, положения о рисках и обеспечении безопасности, а также информацию об утилизации.

СОСТАВ**1. Буфер для V8**

Состав: в набор входит 1 флакон содержащий 500 ml буферного раствора. Буферный раствор готов к употреблению.

УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И СРОК ГОДНОСТИ

Жидкость следует хранить при температуре 15-30 °C или на борту анализатора, в этом случае она сохраняет стабильность до окончания срока годности, указанного на ярлыке.



Тел. +44 (0)191 482 8440
Факс +44 (0)191 482 8442
Эл. почта info@helena-biosciences.com

www.helena-biosciences.com

Helena Biosciences Europe Queensway South,
Team Valley Trading Estate, Gateshead,
Tyne and Wear, NE11 0SD, United Kingdom

Буфер для электрофореза - Electra-hr buffer

НАЗНАЧЕНИЕ

Буферный раствор предназначен для электрофоретического разделения белков сыворотки крови на мембранах из ацетатцеллюлозы с последующим денситометрическим определением белковых фракций.

ПРИНЦИП МЕТОДА

Принцип электрофоретического разделения белков основан на различной скорости движения молекул белков сыворотки крови в постоянном электрическом поле определённой напряжённости. Разделённые белковые фракции окрашиваются красителем. Интенсивность окраски белковых фракций пропорциональна их количеству.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Все реагенты предназначены только для диагностического использования в условиях *in-vitro*. Не глотать и не пипетировать ртом ни один компонент набора. Надевать перчатки при работе со всеми компонентами набора. См. паспорт безопасности химического вещества, положения о рисках и обеспечении безопасности, а также информацию об утилизации.

СОСТАВ

1. Буфер для электрофореза

Состав: в набор входит 10 пакетов содержащий по 18 гр. каждый порошка для приготовления буферного раствора.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ БУФЕРА

Растворите пакет в 750 мл дистиллированной воды. Аккуратно перемешайте и отфильтруйте полученный раствор. Приготовленный буфер хранится при комнатной температуре до 6 месяцев.

УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И СРОК ГОДНОСТИ

Набор необходимо хранить при температуре 2-8°C в упаковке предприятия-изготовителя в течение всего срока годности (18 месяцев).

ПРИМЕНЕНИЕ

Буфер для электрофореза используется только с оборудованием, реагентами и аксессуарами производства компании Helena. Инструкция по применению приведена в руководстве к анализаторам.



Тел. +44 (0)191 482 8440
Факс +44 (0)191 482 8442
Эл. почта info@helena-biosciences.com

www.helena-biosciences.com

Helena Biosciences Europe Queensway South,
Team Valley Trading Estate, Gateshead,
Tyne and Wear, NE11 0SD, United Kingdom

Промывочный буфер для прибора V8 - V8 Maintenance buffer.

НАЗНАЧЕНИЕ

Промывочный буфер для прибора V8 применяется для промывки капилляров и пробозаборника системы капиллярного электрофореза V-8 производства компании Helena (UK).

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Все реагенты предназначены только для диагностического использования в условиях *in-vitro*. Не глотать и не пипетировать ртом ни один компонент набора. Надевать перчатки при работе со всеми компонентами набора. См. паспорт безопасности химического вещества, положения о рисках и обеспечении безопасности, а также информацию об утилизации.

СОСТАВ

1. Промывочный буфер для V8

Состав: в набор входит 1 флакон содержащий 500 ml буферного раствора. Буферный раствор готов к употреблению.

УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И СРОК ГОДНОСТИ

Жидкость следует хранить при температуре 15-30 °C или на борту анализатора, в этом случае она сохраняет стабильность до окончания срока годности, указанного на ярлыке.



Тел. +44 (0)191 482 8440
Факс +44 (0)191 482 8442
Эл. почта info@helena-biosciences.com

www.helena-biosciences.com

Helena Biosciences Europe Queensway South,
Team Valley Trading Estate, Gateshead,
Tyne and Wear, NE11 0SD, United Kingdom

Теплоотводящая жидкость - REP PREP

НАЗНАЧЕНИЕ

Теплоотводящая жидкость применяется для смачивания рабочей поверхности электрофоретической камеры с целью обеспечения полного контакта между гелем и камерой.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Все реагенты предназначены только для диагностического использования в условиях *in-vitro*. Не глотать и не пипетировать ртом ни один компонент набора. Надевать перчатки при работе со всеми компонентами набора. См. паспорт безопасности химического вещества, положения о рисках и обеспечении безопасности, а также информацию об утилизации.

СОСТАВ

1. Теплоотводящая жидкость

Состав: в набор входит 1 флакон содержащий 250 ml теплоотводящей жидкости.

УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И СРОК ГОДНОСТИ

Жидкость следует хранить при температуре 15-30 °C, в этом случае она сохраняет стабильность до окончания срока годности, указанного на ярлыке.

ПРИМЕНЕНИЕ

Теплоотводящая жидкость используется только с оборудованием, реагентами и аксессуарами производства компании Helena. Инструкция по применению приведена в руководстве к анализаторам.



Тел. +44 (0)191 482 8440
Факс +44 (0)191 482 8442
Эл. почта info@helena-biosciences.com
www.helena-biosciences.com

Helena Biosciences Europe Queensway South,
Team Valley Trading Estate, Gateshead,
Tyne and Wear, NE11 0SD, United Kingdom

Контроль гематологический (ASA2) - ASA2 Hemo Control.

Инструкция по применению

НАЗНАЧЕНИЕ

ASA2 Немо контроль может использоваться как для количественного, так и для качественного контроля для идентификации и/или количественного определения гемоглобина в крови человека методом электрофореза.

Контроль является маркером для идентификации HbA, HbA2 и HbS в опытных образцах, а когда используется количественно, то обеспечивает проверку выполнения всех этапов анализа.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Используется только для диагностики *in vitro*. Рассматривайте реагенты как источник потенциальной биологической опасности и, в связи с этим, принимайте все меры предосторожности. Компоненты, входящие в состав данного набора были проверены на содержание антигенов к гепатиту В (HBsAg), ВИЧ 1&2 и HCV антител с отрицательным результатом, тем не менее, с ними следует обращаться с особой осторожностью.

СОСТАВ

1. ASA2 Немо контроль (1 x 1 мл)

ASA2 Немо контроль готовится из свежих эритроцитов человека, которые были отмыты и гемолизированы. К гемолизату были добавлены цианистый калий и другие стабилизаторы. Контроль находится во флаконе в жидком виде.

2. Другие компоненты набора

Каждый набор содержит лотспецифичную инструкцию по применению

ХРАНЕНИЕ И СРОК ГОДНОСТИ

1. ASA2 Немо контроль

ASA2 Немо контроль должен храниться при температуре 2 ... 6 ° C, стабилен до истечения срока годности, указанного на этикетке.

Признаки ухудшения: чрезмерное размытие полос гемоглобина или ошибки при количественном определении указывают на распад гемоглобина.

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Ожидаемые значения для контроля ASA2 Немо находятся в референсном диапазоне, который напечатан в паспорте, вложенным в упаковку с контролем. Паспортные данные получены с помощью оборудования и расходных материалов производства компании Helena BioSciences.

Рисунок 1 показывает относительное положение полос гемоглобина. Точки нанесения на гель и по крайней мере одна группа карбоангидразы будут присутствовать на электрофорезном геле.

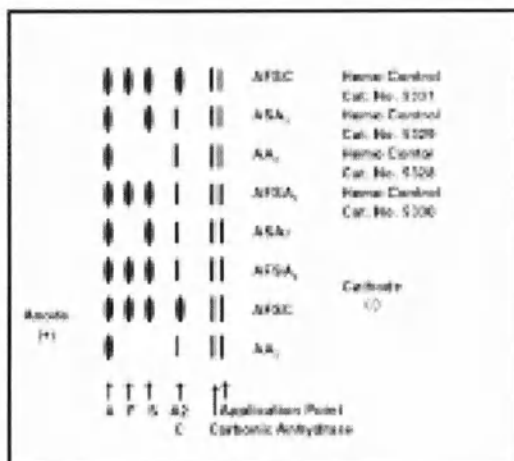
Эти зоны должны быть дифференцированы от фракций гемоглобинов и исключены из расчетов.



Тел. +44 (0)191 482 8440
Факс +44 (0)191 482 8442
Эл. почта info@helena-biosciences.com
www.helena-biosciences.com

Helena Biosciences Europe Queensway South,
Team Valley Trading Estate, Gateshead,
Tyne and Wear, NE11 0SD, United Kingdom

Рис.1



Результаты, полученные при использовании контроля, зависят от ряда факторов, связанных с методами и инструментами которые используются лабораторией. Значения, которые приведены в паспорте для всех тест-систем помимо тех, которые поставляются компанией Helena BioSciences, могут различаться.



Тел. +44 (0)191 482 8440
Факс +44 (0)191 482 8442
Эл. почта info@helena-biosciences.com
www.helena-biosciences.com

Helena Biosciences Europe Queensway South,
Team Valley Trading Estate, Gateshead,
Tyne and Wear, NE11 0SD, United Kingdom

Контроль гематологический (AA2) - AA2 Hemo Control.

Инструкция по применению

НАЗНАЧЕНИЕ

AA2 Немо контроль может использоваться как для количественного, так и для качественного контроля для идентификации и/или количественного определения гемоглобина в крови человека методом электрофореза.

Контроль является маркером для определения HbA и HbA2 в опытных образцах, а когда используется количественно, то обеспечивает проверку выполнения всех этапов анализа.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Используется только для диагностики *in vitro*. Рассматривайте реагенты как источник потенциальной биологической опасности и, в связи с этим, принимайте все меры предосторожности. Компоненты, входящие в состав данного набора были проверены на содержание антигенов к гепатиту В (HBsAg), ВИЧ 1&2 и HCV антител с отрицательным результатом, тем не менее, с ними следует обращаться с особой осторожностью.

СОСТАВ**1. AA2 Немо контроль (1 x 1 мл)**

AA2 Немо контроль готовится из свежих эритроцитов человека, которые были отмыты и гемолизированны. К гемолизату были добавлены цианистый калий и другие стабилизаторы. Контроль находится во флаконе в жидком виде.

2. Другие компоненты набора

Каждый набор содержит лотспецифичную инструкцию по применению

ХРАНЕНИЕ И СРОК ГОДНОСТИ**1. AA2 Немо контроль**

AA2 Немо контроль должен храниться при температуре 2 ... 6 ° C, стабилен до истечения срока годности, указанного на этикетке.

Признаки ухудшения: чрезмерное размытие полос гемоглобина или ошибки при количественном определении указывают на распад гемоглобина.

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Ожидаемые значения для контроля AA2 Немо находятся в референсном диапазоне, который напечатан в паспорте, вложенным в упаковку с контролем. Паспортные данные получены с помощью оборудования и расходных материалов производства компании Helena BioSciences.

Рисунок 1 показывает относительное положение полос гемоглобина. Точки нанесения на гель и по крайней мере одна группа карбоангидразы будут присутствовать на электрофорезном геле.

Эти зоны должны быть дифференцированы от фракций гемоглобинов и исключены из расчетов.

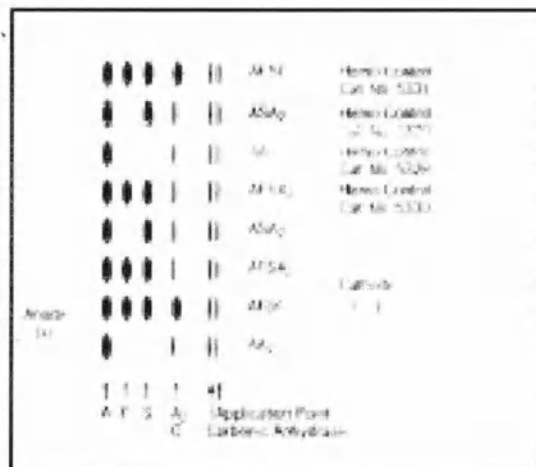
Всегда проверяйте соответствие лота контроля и лота указанного в паспорте.



Тел. +44 (0)191 482 8440
Факс +44 (0)191 482 8442
Эл. почта info@helena-biosciences.com
www.helena-biosciences.com

Helena Biosciences Europe Queensway South,
Team Valley Trading Estate, Gateshead,
Tyne and Wear, NE11 0SD, United Kingdom

Рис.1



ПРЕДЕЛЫ

Результаты, полученные при использовании контроля, зависят от ряда факторов, связанных с методами и инструментами которые используются лабораторией. Значения, которые приведены в паспорте для всех тест-систем помимо тех, которые поставляются компанией Helena BioSciences, могут различаться.



Тел. +44 (0)191 482 8440
Факс +44 (0)191 482 8442
Эл. почта info@helena-biosciences.com
www.helena-biosciences.com

Helena Biosciences Europe Queensway South,
Team Valley Trading Estate, Gateshead,
Tyne and Wear, NE11 0SD, United Kingdom

Контроль гематологический (AFSA2) Hemo Control AFSA2

Инструкция по применению

НАЗНАЧЕНИЕ

AFSA2 Немо контроль может использоваться как для количественного, так и для качественного контроля для идентификации и/или количественного определения гемоглобина в крови человека методом электрофореза.

Контроль является маркером для идентификации HbA, HbA₂, HbF и HbS в опытных образцах, а когда используется количественно, то обеспечивает проверку выполнения всех этапов анализа.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Используется только для диагностики *in vitro*. Рассматривайте реагенты как источник потенциальной биологической опасности и, в связи с этим, принимайте все меры предосторожности. Компоненты, входящие в состав данного набора были проверены на содержание антигенов к гепатиту В (HBsAg), ВИЧ 1&2 и HCV антител с отрицательным результатом, тем не менее, с ними следует обращаться с особой осторожностью.

СОСТАВ

1. AFSA2 Немо контроль (1 x 1 мл)

AFSA2 Немо контроль готовится из свежих эритроцитов человека, которые были отмыты и гемолизированы. К гемолизату были добавлены цианистый калий и другие стабилизаторы. Контроль находится во флаконе в жидком виде.

2. Другие компоненты набора

Каждый набор содержит лотспецифичную инструкцию по применению.

ХРАНЕНИЕ И СРОК ГОДНОСТИ

1. AFSA2 Немо контроль

AFSA2 Немо контроль должен храниться при температуре 2 ... 6 ° C, стабилен до истечения срока годности, указанного на этикетке.

Признаки ухудшения: чрезмерное размытие полос гемоглобина или ошибки при количественном определении указывают на распад гемоглобина.

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Ожидаемые значения для контроля AFSA2 Немо находятся в референсном диапазоне, который напечатан в паспорте, вложенным в упаковку с контролем. Паспортные данные получены с помощью оборудования и расходных материалов производства компании Helena BioSciences. Рисунок 1 показывает относительное положение полос гемоглобина. Точки нанесения на гель и, по крайней мере, одна группа карбоангидразы будут присутствовать на электрофорезном геле.

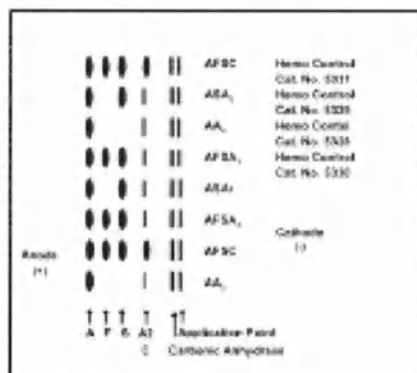
Эти зоны должны быть дифференцированы от фракций гемоглобинов и исключены из расчетов. Всегда проверяйте соответствие лота контроля и лота указанного в паспорте.



Тел. +44 (0)191 482 8440
Факс +44 (0)191 482 8442
Эл. почта info@helena-biosciences.com
www.helena-biosciences.com

Helena Biosciences Europe Queensway South,
Team Valley Trading Estate, Gateshead,
Tyne and Wear, NE11 0SD, United Kingdom

Рис.1



ПРЕДЕЛЫ

Результаты, полученные при использовании контроля, зависят от ряда факторов, связанных с методами и инструментами которые используются лабораторией. Значения, которые приведены в паспорте для всех тест-систем помимо тех, которые поставляются компанией Helena BioSciences, могут различаться.



Тел. +44 (0)191 482 8440
Факс +44 (0)191 482 8442
Эл. почта info@helena-biosciences.com
www.helena-biosciences.com

Helena Biosciences Europe Queensway South,
Team Valley Trading Estate, Gateshead,
Tyne and Wear, NE11 0SD, United Kingdom



Тел. +44 (0)191 482 8440
Факс +44 (0)191 482 8442
Эл. почта info@helena-biosciences.com
www.helena-biosciences.com

Helena Biosciences Europe Queensway South,
Team Valley Trading Estate, Gateshead,
Tyne and Wear, NE11 0SD, United Kingdom

Контроль гематологический (AFSC) - AFSC Hemo Control. Инструкция по применению

НАЗНАЧЕНИЕ

AFSC Hemo контроль может использоваться как для количественного, так и для качественного контроля для идентификации и/или количественного определения гемоглобина в крови человека методом электрофореза.

Контроль является маркером для идентификации HbA, HbF, HbS и HbC в опытных образцах, а когда используется количественно, то обеспечивает проверку выполнения всех этапов анализа.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Используется только для диагностики *in vitro*. Рассматривайте реагенты как источник потенциальной биологической опасности и, в связи с этим, принимайте все меры предосторожности. Компоненты, входящие в состав данного набора были проверены на содержание антигенов к гепатиту В (HBsAg), ВИЧ 1&2 и HCV антител с отрицательным результатом, тем не менее, с ними следует обращаться с особой осторожностью.

СОСТАВ

1. AFSC Hemo контроль (1 x 1 мл)

AFSC Hemo контроль готовится из свежих эритроцитов человека, которые были отмыты и гемолизированы. К гемолизату были добавлены цианистый калий и другие стабилизаторы. Контроль находится во флаконе в жидком виде.

2. Другие компоненты набора

Каждый набор содержит лотспецифичную инструкцию по применению.

ХРАНЕНИЕ И СРОК ГОДНОСТИ

1. AFSC Hemo контроль

AFSC Hemo контроль должен храниться при температуре 2 ... 6 ° C, стабилен до истечения срока годности, указанного на этикетке.

Признаки ухудшения: чрезмерное размытие полос гемоглобина или ошибки при количественном определении указывают на распад гемоглобина.

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Ожидаемые значения для контроля AFSC Hemo находятся в референсном диапазоне, который напечатан в паспорте, вложенным в упаковку с контролем. Паспортные данные получены с помощью оборудования и расходных материалов производства компании Helena BioSciences. Рисунок 1 показывает относительное положение полос гемоглобина. Точки нанесения на гель и, по крайней мере, одна группа карбоангидразы будут присутствовать на электрофорезном геле.

Эти зоны должны быть дифференцированы от фракций гемоглобинов и исключены из расчетов. Всегда проверяйте соответствие лота контроля и лота указанного в паспорте.



Тел. +44 (0)191 482 8440
Факс +44 (0)191 482 8442
Эл. почта info@helena-biosciences.com
www.helena-biosciences.com

Helena Biosciences Europe Queensway South,
Team Valley Trading Estate, Gateshead,
Tyne and Wear, NE11 0SD, United Kingdom

[illegible]

Результаты, полученные при использовании контроля, зависят от ряда факторов, связанных с методами и инструментами которые используются лабораторией. Значения, которые приведены в паспорте для всех тест-систем помимо тех, которые поставляются компанией Helena BioSciences, могут различаться.

Контроль для изоферментов КК и ЛДГ (CK/LD Isoenzyme Control)

Инструкция по применению

ПРЕДПОЛАГАЕМОЕ ИСПОЛЬЗОВАНИЕ

Контроль для изоферментов КК и ЛДГ (CK/LD Isoenzyme Control) предназначен для проведения качественного и/или количественного контроля при определении изоферментов креатинкиназы (КК) и лактат дегидрогеназы (ЛДГ) при помощи электрофореза геля агарозы. Согласно апробированным лабораторным методам мониторинг процедуры тестирования должен производиться при помощи материалов, содержащих известные концентрации исследуемых веществ. CK/LD Isoenzyme Control (контроль для изоферментов КК и ЛДГ) содержит известные концентрации изоферментов креатинкиназы и лактат дегидрогеназы, производящие диапазон допустимых значений на основании данных, полученных при помощи процедур, рекомендованных Helena.

Изоферменты КК и ЛДГ разделяются в соответствии с их электрофоретической подвижностью в геле агарозы. После разделения изоферменты КК и ЛДГ обрабатываются соответственно реагентом для изофермента КК (CK Isoenzyme Reagent)¹⁻³ и реагентом для ЛДГ (LD Reagent)⁴⁻⁷. Затем полученные гели можно оценить количественно при помощи денситометра, либо визуально.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Только для *in vitro* диагностики. Не глотать и не пипетировать ртом любой из компонентов набора. Фразы безопасности и риска, а также информация по утилизации приведены в инструкции по применению. Сыворотка крови человека, используемая в данном продукте, показала отрицательный результат в тесте на поверхностный антиген к вирусу гепатита В (HBsAg) и антитела к ВИЧ и вирус гепатита С, однако при работе с ним следует соблюдать те же меры предосторожности, что и при работе с сывороткой пациентов.

СОСТАВ (5 x 1 мл)

CK/LD Isoenzyme Control (контроль для изоферментов КК и ЛДГ) подготавливается из экстрактов мышечных тканей и сыворотки крови человека с добавлением стабилизаторов. Контроль поставляется в лиофилизированном виде.

ХРАНЕНИЕ И СРОК ГОДНОСТИ

Лиофилизированный контроль, хранимый при температуре от 2 до 6°C, стабилен до окончания срока годности, указанного на этикетке.

Значения для креатинкиназы, после восстановления реагента 2,0 мл деионизированной или дистиллированной водой, стабильны в течении 8 часов при температуре 15...30°C, 4 дня при 2...6°C, или 5 дней при -20°C.

Значения для лактат дегидрогеназы, после восстановления реагента 2,0 мл деионизированной или дистиллированной водой, стабильны в течении 24 часов при температуре 15...30°C, 8 часов при 2...6°C, или 5 дней при -20°C.

Если восстановленный контроль необходимо поместить на хранение при -20°C, его необходимо разделить на необходимые части, чтобы избежать повторных циклов заморозки. Замороженный материал следует использовать в течении часа после размораживания.

Признаки разложения: лиофилизированный CK/LD Isoenzyme Control должен быть сухим, светло-желтого цвета. Если результат вновь не попал в диапазон доверия или фракции не удалось разделить электрофорезом, то это также может указывать на разложение.

СБОР И ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦОВ

CK/LD Isoenzyme Control (контроль для изоферментов КК и ЛДГ) следует обрабатывать как неизвестные образцы. Контроль следует добавлять к каждой группе исследуемых образцов. Восстановите CK/LD Isoenzyme Control при помощи 2,0 мл деионизированной или дистиллированной воды. Покрутите пробирку, чтобы перемешать. Перед

использованием убедитесь, что реагент был растворен полностью.

Если контроль CK/LD Isoenzyme Control используется как качественный маркер, допускается производить восстановление при помощи 0,5 мл деионизированной или дистиллированной воды, чтобы усилить интенсивность флуоресценции фракций.

ОГРАНИЧЕНИЯ

Результаты, полученные при помощи контроля, зависят от нескольких факторов, в том числе методов и используемых приборов. В случае использования систем электрофореза геля агарозы производства не Helena Laboratories результаты могут отличаться, от значений, приведенных в листе результатов анализа.

РЕФЕРЕНСНЫЕ ЗНАЧЕНИЯ

Ожидаемые средние значения и диапазон приемлемых значений для CK/LD Isoenzyme Control (контроля для изоферментов КК и ЛДГ) приведены в листе результатов анализа. Целевое значение общей концентрации креатинкиназы было определено при помощи модификации Szasz метода Oliver-Rosalki, с кинетической активацией CK-NAC при 37°C. Целевое значение общей концентрации лактат дегидрогеназы было определено при помощи ферментного метода конверсии лактата в пируват при 37°C. Электрофорез выполнялся по стандартной схеме для изоферментов КК и ЛДГ. Другие системы могут показывать значения, отличающиеся от ожидаемых, поэтому лаборатории, использующие другие системы, должны самостоятельно определить диапазон допустимых значений.

Убедитесь, что номер партии на пробирке соответствует номеру партии в таблице.

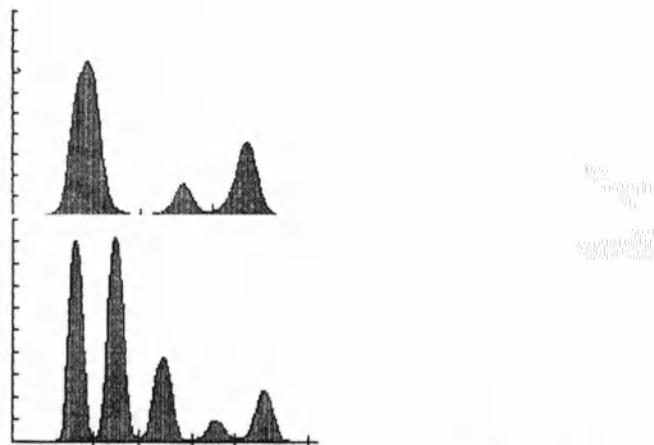


Диаграмма на рисунке выше была получена при помощи денситометра и партии CK/ LD Isoenzyme Control. Диаграмма представляет сокращенную версию скана, полученного при помощи денситометра Helena.

Helena Biosciences Europe
Queensway South
Team Valley Trading Estate, Gateshead
Tyne and Wear, NE11 0SD
Тел.: +44 (0)191 482 8440
Факс: +44 (0)191 482 8442
E-mail: info@helena-biosciences.com
www.helena-biosciences.com



HL-2-1394P 2007/05 (3)

Контроль для тест-системы "Белки в моче с денатурацией ПАВ" - "URINE SDS" CONTROL.

ПРИМЕНЕНИЕ

Контроль для тест-системы «Белки в моче, с денатурацией ПАВ» используется для количественного определения фракций белков в моче на оборудовании компании Helena. Контроль смешивается с образцом до начала проведения электрофореза. После окрашивания белковых фракций контроль присутствует, как белковая фракция рядом с анодом в зоне альбумина. Денситометрическая оценка фракций происходит при использовании референсных значений белка в моче содержащегося в контрольном материале, это позволяет количественно определить отдельные фракции белка на геле или количественно определить концентрацию общего белка в моче. Дополнительные разведения контроля могут быть использованы для определения чувствительности метода с целью контроля качества. Линейность метода до 600 мг/л

БЕЗОПАСНОСТЬ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Только для in vitro диагностики. Данный материал проверен и является негативным на наличие антигенов вирусов гепатита HbsAg и ВИЧ 1 и 2 типов, а так же на антитела HCV, однако следует подходить с теми же мерами безопасности, как и при работе с образцами пациентов.

СОСТАВ

Стандартный раствор готовят из сыворотки крови животного происхождения. Приготовление: Контроль для тест-системы «Белки в моче, с денатурацией ПАВ» поставляется как 250 мл раствора. Добавьте 1000 мл очищенной воды и хорошо перемешайте.

Хранение и срок годности

Для длительного хранения контроля приготовьте аликвоты по 125мл и храните при -20 ° C или ниже. В этих условиях продукт будет стабилен до истечения срока, указанного на этикетке.

ПОШАГОВАЯ ПРОЦЕДУРА

1. Смешайте точное количество – 10 мл разбавленного контроля с 90мл образца и хорошо перемешайте.
2. Выполните электрофорез и окрасьте образцы в соответствии с инструкцией приведенной в наборе к реагентам.



Тел. +44 (0)191 482 8440
Факс +44 (0)191 482 8442
Эл. почта info@helena-biosciences.com
www.helena-biosciences.com

Helena Biosciences Europe Queensway South,
Team Valley Trading Estate, Gateshead,
Tyne and Wear, NE11 0SD, United Kingdom

Контроль для тест-системы «Изоферменты щелочной фосфатазы» - "ALK PHOS CONTROL"

ПРИМЕНЕНИЕ

Контроль изоферментов щелочной фосфатазы производства Helena Biosciences может использоваться в качестве контрольного материала для качественного и/или количественного определения изоферментов щелочной фосфатазы после их электрофоретического разделения.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ.

Только для *in vitro* диагностики. При работе с этим материалом используйте те же предосторожности, что и при работе с сывороткой.

СОСТАВ

1. Изоферменты щелочной фосфатазы

Содержит фракции изоферментов щелочной фосфатазы: печеночную и костную. Контроль готов к работе в упакованном виде.

2. Другие компоненты набора

Каждый комплект содержит инструкции по применению.

Хранение и срок годности

1. Изоферменты щелочной фосфатазы

Контроль должен храниться при температуре +2 ... +6 °C, стабилен до истечения срока годности, указанного на этикетке.

Эталонные значения и приемлемые диапазоны для Lipotrol напечатаны на листе-вкладыше. Результаты анализа получены с помощью оборудования и материалов компании Helena Biosciences. Рекомендуется, чтобы лаборатории, использующие другие системы определяли свои собственные допустимые диапазоны. Перед применением убедитесь, что номер лота на флаконе соответствует номеру лота на листе теста.

Ожидаемые значения были, полученные с использованием набора щелочной фосфатазы для SAS-MX и набора щелочной фосфатазы на SAS-3. Контроль должен рассматриваться идентичным образом, в зависимости от используемого анализатора.

Isoenzyme	Gel Type	Mean %	Range %
Liver Isoenzyme	SAS-MX:		
	REP:		
	SAS-1:		
	SAS-3:		
Bone Isoenzyme	SAS-MX:		
	REP:		
	SAS-1:		
	SAS-3:		

Общая активность щелочной фосфатазы (при 37 °C) = 180,5



Тел. +44 (0)191 482 8440
Факс +44 (0)191 482 8442
Эл. почта info@helena-biosciences.com
www.helena-biosciences.com

Helena Biosciences Europe Queensway South,
Team Valley Trading Estate, Gateshead,
Tyne and Wear, NE11 0SD, United Kingdom

Контроль для тест-системы "Изоэлектрофокусирование
иммуноглобулинов (IgG)" - IGG IEF CONTROL.

helena | BioSciences
Europe
www.helena-biosciences.com

Helena BioSciences Europe
Collins Avenue
Sunderland Enterprise Park
Sunderland
SR5 3XB

tel: +44 (0) 191 549 6064
fax: +44 (0) 191 549 6271

email: info@helena-biosciences.com



HL-2-1282P 2005/11 (5)

ПРИМЕНЕНИЕ

Контроль иммуноглобулина IgG производства компании Хелена используется для качественного контроля идентификации IgG-специфической олигоклональной секреции на агарозном геле при проведении изоэлектрофокусирования и иммуноблотинга.

БЕЗОПАСНОСТЬ

Только для *in vitro* диагностики. Данный материал проверен и является негативным на наличие антигенов вирусов гепатита HbsAg и ВИЧ 1 и 2 типов, а так же на антитела HCV.

СОСТАВ

1. Иммуноглобулин IgG контроль. Лиофилизированный, приготовленный из человеческой сыворотки, с добавлением консервантов.

Восстановление. Добавить 100 мл очищенной воды, тщательно перемешайте, до однородной массы. Теперь иммуноглобулин готов к работе.

ХРАНЕНИЕ И СРОК ГОДНОСТИ.

1. Иммуноглобулин IgG контроль.

Хранить при 2-6°C. Срок годности указан на упаковке. Восстановленный контроль хранить до 5 дней при 2-6°C.

ИНТЕРПРИТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ.

Результаты проверяются сканированием геля, иммунофиксации IgG набора, реагентов и систем.

Рис.1 Олигоклональная секреция IgG.



Проверьте правильность используемых каталожных номеров.

ОГРАНИЧЕНИЯ:

Только для использования с набором для IgG Хелена.

Контроль норма для тест-системы «Карбогидрат-дефицитный трансферрин» - V8 CDT Normal Control.

ПРИМЕНЕНИЕ

Контроль норма для тест-системы «Карбогидрат-дефицитный трансферрин» предназначен для качественного и количественного определения карбогидрат-дефицитного трансферрина в сыворотке крови при проведении анализа методом капиллярного электрофореза на оборудовании V8 компании HELENA.

По правилам GLP требуется, чтобы процедуры испытаний проводились материалами, содержащими известные концентрации аналита. Контроль норма для тест-системы «Карбогидрат-дефицитный трансферрин» содержит известные значения концентрации карбо-гидрат дефицитного трансферрина (CDT) в сыворотке крови, в нормальном диапазоне. Значения определены компанией Хелена с помощью метода капиллярного электрофореза и приведены во вложенном в набор паспорте.

Контроль нормальный для тест-системы «Карбогидрат-дефицитный трансферрин» должен анализироваться, как неизвестный образец. Пожалуйста, обратитесь к инструкции по применению используемого Вами набора реагентов.

БЕЗОПАСНОСТЬ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ. Только для *in vitro* диагностики. Данный материал проверен и является негативным на наличие антигенов вирусов гепатита HbsAg и ВИЧ 1 и 2 типов, а так же на антитела HCV, однако следует подходить с теми же мерами безопасности, как и при работе с образцами пациентов.

СОСТАВ

Контроль норма для тест-системы «Карбогидрат-дефицитный трансферрин» - лиофилизированный контроль приготовленный из человеческой сыворотки с добавлением стабилизаторов.

В каждой упаковке содержится 5 флаконов лиофилизированного контроля.

Приготовление: развести флакон с контролем в 1000µl очищенной воды. Аккуратно перемешайте и не используйте, пока контроль полностью не растворится. Приготовьте аликвоты по 50µl контроля и храните их в морозильнике. Контроль следует анализировать также как образец сыворотки.

ХРАНЕНИЕ И СРОК ГОДНОСТИ

Ллиофилизированный контроль должен храниться при температуре +2 ... +6 ° C, устойчив до истечения срока годности, указанного на этикетке. Разведенный контроль стабилен при температуре 2 ... 6 ° C в течение 5 дней. Замороженные аликвоты контроля стабильны до 12 месяцев, или до истечения срока, указанного на этикетке. Признаки ухудшения качества: наличие не совсем белых включений в лиофилизированном контроле — является признаком ухудшения его качества.

ОГРАНИЧЕНИЯ

Применяется ТОЛЬКО вместе с тест-системой «Карбогидрат-дефицитный трансферрин» для V-8, производства компании Helena Biosciences Europe.



Тел. +44 (0)191 482 8440
Факс +44 (0)191 482 8442
Эл. почта info@helena-biosciences.com
www.helena-biosciences.com

Helena Biosciences Europe Queensway South,
Team Valley Trading Estate, Gateshead,
Tyne and Wear, NE11 0SD, United Kingdom

Контроль патология для тест-системы «Карбогидрат-дефицитный трансферрин» - V8 CDT Normal Control.

ПРИМЕНЕНИЕ

Контроль патология для тест-системы «Карбогидрат-дефицитный трансферрин» предназначен для качественного и количественного определения карбогидрат-дефицитного трансферрина в сыворотке крови при проведении анализа методом капиллярного электрофореза на оборудовании V8 компании HELENA.

По правилам GLP требуется, чтобы процедуры испытаний проводились материалами, содержащими известные концентрации аналита. Контроль патология для тест-системы «Карбогидрат-дефицитный трансферрин» содержит известные высокие (выше референсного интервала) значения концентрации карбо-гидрат дефицитного трансферрина (CDT) в сыворотке крови. Значения определены компанией Хелена с помощью метода капиллярного электрофореза и приведены во вложенном в набор паспорте.

Контроль патологический для тест-системы «Карбогидрат-дефицитный трансферрин» должен анализироваться, как неизвестный образец. Пожалуйста, обратитесь к инструкции по применению используемого Вами набора реагентов.

БЕЗОПАСНОСТЬ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Только для *in vitro* диагностики. Данный материал проверен и является негативным на наличие антигенов вирусов гепатита HbsAg и ВИЧ 1 и 2 типов, а так же на антитела HCV, однако следует подходить с теми же мерами безопасности, как и при работе с образцами пациентов.

СОСТАВ

Контроль патология для тест-системы «Карбогидрат-дефицитный трансферрин» - лиофилизированный контроль приготовленный из человеческой сыворотки с добавлением стабилизаторов.

В каждой упаковке содержится 5 флаконов лиофилизированного контроля. Приготовление: развести флакон с контролем в 1000µl очищенной воды. Аккуратно перемешайте и не используйте, пока контроль полностью не раствориться. Приготовьте аликвоты по 50µl контроля и храните их в морозильнике. Контроль следует анализировать также как образец сыворотки.

ХРАНЕНИЕ И СРОК ГОДНОСТИ

Ллиофилизированный контроль должен храниться при температуре +2 ... +6 ° C, устойчив до истечения срока годности, указанного на этикетке. Разведенный контроль стабилен при температуре 2 ... 6 ° C в течение 5 дней. Замороженные аликвоты контроля стабильны до 12 месяцев, или до истечения срока, указанного на этикетке. Признаки ухудшения качества: наличие не совсем белых включений в лиофилизированном контроле — является признаком ухудшения его качества.

ОГРАНИЧЕНИЯ

Применяется ТОЛЬКО вместе с тест-системой «Карбогидрат-дефицитный трансферрин» для V8, производства компании Helena Biosciences Europe.



Тел. +44 (0)191 482 8440
Факс +44 (0)191 482 8442
Эл. почта info@helena-biosciences.com
www.helena-biosciences.com

Helena Biosciences Europe Queensway South,
Team Valley Trading Estate, Gateshead,
Tyne and Wear, NE11 0SD, United Kingdom

Контроль, для тест-системы "Липопротейны" - Lipotrol Control.

ПРИМЕНЕНИЕ

Контроль используется для количественного и/или качественного контроля при идентификации липопротейнов методом электрофореза. Согласно требованиям GLP процедуры испытаний должны быть проверены материалами, содержащими известные значения которые м. б. определены. Lipotrol является контрольным материалом, в котором относительные концентрации альфа-, пре-бета-и бета-фракция липопротейнов были определены с использованием рекомендованных процедур.

БЕЗОПАСНОСТЬ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Только для in vitro диагностики. Данный материал проверен и является негативным на наличие антигенов вирусов гепатита HbsAg и ВИЧ 1 и 2 типов, а так же на антитела HCV, однако следует подходить с теми же мерами безопасности, как и при работе с образцами пациентов.

СОСТАВ (5 x 1 мл)

Lipotrol является лиофилизированным контролем, приготовленным из человеческой сыворотки с добавлением стабилизаторов.

Приготовление: Развести Lipotrol в 1 мл дистиллированной воды. Осторожно перемешайте и не используйте, пока не будет полного растворения.

Хранение и срок годности

Лиофилизированный контроль должен храниться при температуре +2 ... +6 ° C, устойчив до истечения срока годности, указанного на этикетке. Расстворенный контроль стабилен в течение 3 дней при 2 ... 6 ° C.

Признаки ухудшения: В случае неоднократного выпадения значений из предела ожидаемого диапазона или нарушение разделения отдельных фракций методом электрофореза, все это может указывать на ухудшение качества контрольного материала.

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Ожидаемые значения и приемлемые диапазоны для Lipotrol напечатаны на листе-вкладыше. Результаты анализа получены с помощью оборудования и материалов компании Helena Biosciences. Рекомендуется, чтобы лаборатории, использующие другие системы определяли свои собственные допустимые диапазоны. Перед применением убедитесь, что номер лота на флаконе соответствует номеру лота на листе теста.

ОГРАНИЧЕНИЯ

Общее содержание липидов каждой фракции Lipotrol не было определено. Липопротейны окрашенные Fat Red 7B, используемой в методике компании Хелена имеют гораздо большее сродство к триглицеридам и эфирам холестерина, чем для свободного холестерина и фосфолипидам 1. Относительная интенсивность полос после окрашивания этим красителем не отражает истинного количественного определения общего содержания липидов в каждом диапазоне. Таким образом, только относительные проценты липопротейнов полос следует использовать. Результаты, полученные с контролем зависят от нескольких факторов, связанных с



Тел. +44 (0)191 482 8440
Факс +44 (0)191 482 8442
Эл. почта info@helena-biosciences.com
www.helena-biosciences.com

Helena Biosciences Europe Queensway South,
Team Valley Trading Estate, Gateshead,
Tyne and Wear, NE11 0SD, United Kingdom

используемыми методами и инструментами. Использование тест-систем, не являющиеся Helena Biosciences может привести к значениям, которые отличаются от тех, что напечатаны на листе теста.

ЛИТЕРАТУРА

1. Davidsohn, I. and Henry, J. B., Ed., *Todd-Sanford: Clinical Diagnosis by Laboratory Methods 15th Ed. W.B. Saunders Co., Philadelphia, 639.*



Тел. +44 (0)191 482 8440
Факс +44 (0)191 482 8442
Эл. почта info@helena-biosciences.com
www.helena-biosciences.com

Helena Biosciences Europe Queensway South,
Team Valley Trading Estate, Gateshead,
Tyne and Wear, NE11 0SD, United Kingdom

Контроль для тест-системы «Холестериновый профиль» (Cholesterol Profile Control)

Инструкция по применению

НАЗНАЧЕНИЕ

Контроль для тест-системы Холестериновый профиль (Cholesterol Profile Control) предназначен для проведения качественного и/или количественного контроля при определении липопротеина холестерина при помощи электрофореза. Согласно апробированным лабораторным методам мониторинг процедуры тестирования должен производиться при помощи материалов, содержащих известные концентрации исследуемых веществ. Cholesterol Profile Control (контроль для тест-системы Холестериновый профиль) содержит известные концентрации холестерина во фракциях липопротеина, производящие диапазон допустимых значений на основании данных, полученных при помощи процедур, рекомендованных Helena BioSciences Europe.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Только для *in vitro* диагностики. Данный материал показал отрицательный результат в тесте на поверхностный антиген к вирусу гепатита В (HBsAg) и антитела к ВИЧ 1 и 2, однако при работе с ним следует соблюдать те же меры предосторожности, что и при работе с сывороткой пациентов. Фразы безопасности и риска, а также информация по утилизации приведены в инструкции по применению.

СОСТАВ

1. Cholesterol Profile Control (5 x 1 мл)

Контроль является лиофилизатом, приготовленным из натуральной сыворотки крови человека с добавлением стабилизаторов.

Восстановите: содержимое при помощи 1,0 мл очищенной воды. Аккуратно покрутите, чтобы перемешать и используйте только после полного растворения содержимого.

2. Другие компоненты набора

В каждом наборе имеется инструкция по применению.

ХРАНЕНИЕ И СРОК ГОДНОСТИ

1. Cholesterol Profile Control (контроль, для тест-системы холестеринный профиль)

Лиофилизированный контроль, хранимый при температуре от 2 до 6°C, стабилен до окончания срока годности, указанного на этикетке. Восстановленный контроль стабилен в течение 5 дней при температуре от 2 до 6°C.

Признаки разложения: если результат вновь не попал в диапазон доверия или фракции не удалось разделить электрофорезом, то это также может указывать на разложение. Продукт не следует использовать, если имеются признаки микробиологического заражения.

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Ожидаемые средние значения и диапазон приемлемых значений для Cholesterol Profile Control (контроля для тест-системы Холестериновый профиль) приведены в листе результатов анализа. Концентрация общего холестерина была определена при помощи ферментного метода³. Из-за различий в применяемых методах и оборудовании, каждая лаборатория должна самостоятельно установить допустимые интервалы для общего холестерина в системе. Содержание холестерина во фракциях липопротеинов было определено согласно рекомендациям инструкций по применению от Helena BioSciences для Холестеринового профиля^{1,2}. Рекомендуется лабораториям, использующим другие системы, самостоятельно определить диапазон допустимых значений.

Убедитесь, что номер партии на пробирке соответствует номеру партии в таблице.

ОГРАНИЧЕНИЯ

Результаты, полученные при помощи контроля, зависят от нескольких факторов, в том

числе методов и используемых приборов. В случае использования анализаторов производства не Helena BioSciences результаты могут отличаться, от значений, приведенных в листе результатов анализа.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. REP Cholesterol Profile Instructions For Use, HL-2-0375P.
2. SPIFE Cholesterol Profile Instructions For Use, HL-2-1291P.

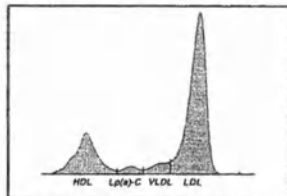


Диаграмма на рисунке выше была получена

3. Allain, C. C. et al, Enzymatic Determination of total Serum Cholesterol, Clin Chem, 20:4, 470-475, 1954.

Helena Biosciences Europe
Queensway South
Team Valley Trading Estate, Gateshead
Tyne and Wear, NE11 0SD
Тел.: +44 (0)191 482 8440
Факс: +44 (0)191 482 8442
E-mail: info@helena-biosciences.com
www.helena-biosciences.com



HL-2-1554P 2007/05 (3)



CEtrol контроль сыворотки, норма (CEtrol SERUM CONTROL- NORMAL)

НАЗНАЧЕНИЕ

CEtrol Serum Control-Normal (CEtrol нормальный контроль сыворотки) предназначен для количественного и/или качественного контроля электрофореза белка в сыворотке крови на системе для клинического капиллярного электрофореза V8.

Согласно апробированным лабораторным методам мониторинг процедуры тестирования должен производиться при помощи материалов, содержащих известные концентрации исследуемых веществ. CEtrol Serum Control-Normal (CEtrol нормальный контроль сыворотки) содержит известные концентрации компонентов сыворотки, которые были протестированы в продуктах Helena для электрофореза белка сыворотки и приведены в таблице; диапазон допустимых значений основан на рекомендациях соответствующей инструкции по применению продукта Helena.

CEtrol Serum Control-Normal (CEtrol нормальный контроль сыворотки) следует обрабатывать как неизвестные образцы.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Только для *in vitro* диагностики.

ВНИМАНИЕ: данный материал показал отрицательный результат в тесте на поверхностный антиген к вирусу гепатита В (HBsAg) и антитела к ВИЧ 1 и 2, однако при работе с ним следует соблюдать те же меры предосторожности, что и при работе с сывороткой пациентов.

СОСТАВ

CEtrol Serum Control-Normal (CEtrol нормальный контроль сыворотки) является лиофилизированным контролем, полученным из сыворотки крови человека.

Восстановите: CEtrol Serum Control - Normal при помощи 2,0 мл деионизированной или дистиллированной воды. Покрутите пробирку, чтобы перемешать. Оставьте приблизительно на 20 минут, чтобы обеспечить полное растворение содержимого. Всегда аккуратно перемешивайте перед использованием.

ХРАНЕНИЕ И СРОК ГОДНОСТИ

При условии хранения лиофилизованного контроля при температуре 2...6°C он стабилен до окончания срока годности, указанного на этикетке. Восстановленный контроль стабилен до 5 дней при 2...6°C, либо его можно разделить на необходимые части, заморозить и хранить при -20°C. При температуре -20°C контроль стабилен 4 недели. После размораживания части контроля не замораживайте его повторно. Признаки разложения: лиофилизированный контроль должен выглядеть как сухая пробка светло-желтого цвета.

ОГРАНИЧЕНИЯ

Результаты, полученные при помощи контроля, зависят от нескольких факторов, в том числе методов и используемых приборов.

В случае использования анализаторов производства не Helena BioSciences Europe результаты могут отличаться, от значений, приведенных в листе результатов анализа.

РАБОЧИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Ожидаемые средние значения и диапазон приемлемых значений для CEtrol Serum Control-Normal (CEtrol нормального контроля сыворотки) приведены в листе результатов анализа. Концентрация общего белка была определена при помощи метода определения биурета (1). Из-за различий в применяемых методах и оборудовании, каждая лаборатория должна самостоятельно установить допустимые интервалы для общего белка в системе. Другие системы электрофореза могут показывать значения,

отличающиеся от ожидаемых, поэтому лаборатории, использующие другие системы, должны самостоятельно определить диапазон допустимых значений. Имеющиеся значения указывают на различия между партиями контроля на системе от Helena BioSciences Europe.

Убедитесь, что номер партии на пробирке соответствует номеру партии в таблице.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Gornal, A.E. et al., Determination of Serum Proteins by Means of the Biuret Reaction. J. Biol Chem, 177:751, 1944.

Helena Biosciences Europe
Queensway South, Team Valley Trading Estate,
Gateshead, Tyne and Wear, NE11 0SD, United Kingdom
Тел.: +44 (0)191 482 8440
info@helena-biosciences.com
©2010 Все права защищены; HL-2-2205P 2010/06 (1)
www.helena-biosciences.com




 helena

Контроль сыворотки CEtrol, патология (CEtrol SERUM CONTROL- ABNORMAL)

НАЗНАЧЕНИЕ

CEtrol Serum Control-Abnormal (CEtrol контроль сыворотки, патология) предназначен для количественного и/или качественного контроля электрофореза белка в сыворотке крови на системе для клинического капиллярного электрофореза V8.

Согласно апробированным лабораторным методам мониторинг процедуры тестирования должен производиться при помощи материалов, содержащих известные концентрации исследуемых веществ. CEtrol Serum Control-Abnormal (CEtrol контроль сыворотки, патология) содержит известные концентрации компонентов сыворотки, которые были протестированы в продуктах Helena для электрофореза белка сыворотки и приведены в таблице; диапазон допустимых значений основан на рекомендациях соответствующей инструкции по применению продукта Helena.

CEtrol Serum Control-Abnormal (CEtrol контроль сыворотки, патология) следует обрабатывать как неизвестные образцы.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Только для in vitro диагностики.

ВНИМАНИЕ: данный материал показал отрицательный результат в тесте на поверхностный антиген к вирусу гепатита В (HBsAg) и антитела к ВИЧ 1 и 2, однако при работе с ним следует соблюдать те же меры предосторожности, что и при работе с сывороткой пациентов.

СОСТАВ

CEtrol Serum Control-Abnormal (CEtrol контроль сыворотки, патология) является лиофилизированным контролем, полученным из сыворотки крови человека. Восстановите: CEtrol Serum Control - Abnormal (CEtrol контроль сыворотки, патология) при помощи 2,0 мл деионизированной или дистиллированной воды. Покрутите пробирку, чтобы перемешать. Оставьте приблизительно на 20 минут, чтобы обеспечить полное растворение содержимого. Всегда аккуратно перемешивайте перед использованием.

ХРАНЕНИЕ И СРОК ГОДНОСТИ

При условии хранения лиофилизированного контроля при температуре 2...6°C он стабилен до окончания срока годности, указанного на этикетке. Восстановленный контроль стабилен до 5 дней при 2...6°C, либо его можно разделить на необходимые части, заморозить и хранить при -20°C. При температуре -20°C контроль стабилен 4 недели. После размораживания части контроля не замораживайте его повторно.

Признаки разложения: лиофилизированный контроль должен выглядеть как сухая пробка светло-желтого цвета.

ОГРАНИЧЕНИЯ

Результаты, полученные при помощи контроля, зависят от нескольких факторов, в том числе методов и используемых приборов.

В случае использования анализаторов производства не Helena BioSciences Europe результаты могут отличаться, от значений, приведенных в листе результатов анализа.

РАБОЧИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Ожидаемые средние значения и диапазон приемлемых значений для CEtrol Serum Control-Abnormal (CEtrol контроля сыворотки, патология) приведены в листе результатов анализа. Концентрация общего белка была определена при помощи метода определения биурета (1). Из-за различий в применяемых методах и оборудовании, каждая лаборатория должна самостоятельно установить допустимые интервалы для общего белка в системе. Другие системы электрофореза могут показывать значения, отличающиеся от ожидаемых, поэтому лаборатории, использующие другие системы,

должны самостоятельно определить диапазон допустимых значений. Имеющиеся значения указывают на различия между партиями контроля на системе от Helena BioSciences Europe. Убедитесь, что номер партии на пробирке соответствует номеру партии в таблице.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Gornal, A.E. et al., Determination of Serum Proteins by Means of the Biuret Reaction. J. Biol Chem, 177:751, 1944.

Helena Biosciences Europe
Queensway South, Team Valley Trading Estate,
Gateshead, Tyne and Wear, NE11 0SD, United Kingdom
Тел.: +44 (0)191 482 8440
info@helena-biosciences.com
©2010 Все права защищены; HL-2-2206P 2010/06 (1)
www.helena-biosciences.com



Контроль сыворотки Kemtrol, норма - Kemtrol-Normal.

Назначение

Кемтрол - контроль нормальный и контроль патологический уровень предназначены для использования, как для количественного, так и для качественного исследования фракций белков в сыворотке, методом электрофореза на ацетатцеллюлозе и агарозе. Они могут быть также использованы в качестве контролей для оценки гемоглобин связывающей способности сыворотки крови гаптоглобина.

По правилам GLP требуется, чтобы процедуры испытаний были проведены материалами, содержащими известные концентрации аналита. Кемтрол - контроль патологический уровень содержит известные значения концентраций белковых фракций в сыворотке крови, которые определены компанией Хелена с помощью методов электрофореза, перечисленных во вложенном в набор паспорте, с приемлемым диапазоном значений полученных с помощью соответствующих рекомендаций указанных в инструкции по применению компании Хелена.

Кемтрол - контроль нормальный и контроль патологический уровень должен анализироваться, как неизвестный образец. Пожалуйста, обратитесь к инструкции по применению используемого Вами набора реагентов.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Все реагенты предназначены только для диагностического использования в условиях in-vitro.

Рассматривайте реагенты как источник потенциальной биологической опасности и, в связи с этим, принимайте все меры предосторожности. Компоненты, входящие в состав данного набора были проверены на содержание антигенов к гепатиту В (HBsAg), ВИЧ 1&2 и HCV антител с отрицательным результатом, тем не менее, с ними следует обращаться с особой осторожностью.

Состав

Каждый пузырек нормальный и контроль патологический уровень содержит 2.0 мл лиофилизата, приготовленного из донорского пула человеческой сыворотки.

Приготовление: Разведите Кемтрол в 2.0 ml деионизированной или дистиллированной воды. Плавнo перемешать и дать отстояться при комнатной температуре в течение 20 минут. Перед использованием необходимо перемешать.

Хранение и стабильность

Закрытые флаконы устойчивы до указанной даты окончания срока действия, при условиях хранения, указанных на упаковке. Разведенные контроли устойчивы в течение 5 дней, при хранении в холодильнике ($2\pm 6^{\circ}\text{C}$) или 4 недели при -20°C . **Признаки порчи контролей:** на лиофилизате появляется светло-желтый налет.

ПРЕДЕЛЫ

Результаты, полученные при использовании контрольной сыворотки зависят от нескольких факторов, связанных с используемыми методами и оборудованием.

Использование тест-систем других производителей (не компании Хелена), могут привести к получению значений, которые отличаются от тех, что напечатаны в паспортном листе.

Аналитические характеристики

Ожидаемые средние значения и диапазоны концентраций для кемтрол контроля с нормальным и патологическим уровнем напечатаны в паспорте. Значение общего белка определяется с помощью биуретового метода¹. В силу различных методов и методологий, рекомендуется, чтобы каждая лаборатория определяла общий белок на системах для



Тел. +44 (0)191 482 8440
Факс +44 (0)191 482 8442
Эл. почта info@helena-biosciences.com
www.helena-biosciences.com

Helena Biosciences Europe Queensway South,
Team Valley Trading Estate, Gateshead,
Tyne and Wear, NE11 0SD, United Kingdom

1

электрофореза производства Хелена. Другие системы электрофореза могут дать другие значения, поэтому рекомендуется, чтобы те лаборатории, которые используют другие системы создавали свои собственные пределы. Эти значения должны быть лот-специфичны.

Всегда проверяйте соответствие номера лота на флаконе номеру лота в паспорте.

Литература

I. Gornal, A.E. et al., *Determination of Serum Proteins by Means of the Biuret Reaction. J. Biol Chem*, 177:751, 1944.



Тел. +44 (0)191 482 8440
Факс +44 (0)191 482 8442
Эл. почта info@helena-biosciences.com
www.helena-biosciences.com

Helena Biosciences Europe Queensway South,
Team Valley Trading Estate, Gateshead,
Tyne and Wear, NE11 0SD, United Kingdom

Контроль сыворотки Kemtrol, патология - Kemtrol-Abnormal.

Назначение

Кемтрол - контроль нормальный и контроль патологический уровень предназначены для использования, как для количественного, так и для качественного исследования фракций белков в сыворотке, методом электрофореза на ацетатцеллюлозе и агарозе. Они могут быть также использованы в качестве контролей для оценки гемоглобин связывающей способности сыворотки крови гаптоглобина.

По правилам GLP требуется, чтобы процедуры испытаний были проведены материалами, содержащими известные концентрации аналита. Кемтрол - контроль патологический уровень содержит известные значения концентраций белковых фракций в сыворотке крови, которые определены компанией Хелена с помощью методов электрофореза, перечисленных во вложенном в набор паспорте, с приемлемым диапазоном значений полученных с помощью соответствующих рекомендаций указанных в инструкции по применению компании Хелена.

Кемтрол - контроль нормальный и контроль патологический уровень должен анализироваться, как неизвестный образец. Пожалуйста, обратитесь к инструкции по применению используемого Вами набора реагентов.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Все реагенты предназначены только для диагностического использования в условиях in-vitro.

Рассматривайте реагенты как источник потенциальной биологической опасности и, в связи с этим, принимайте все меры предосторожности. Компоненты, входящие в состав данного набора были проверены на содержание антигенов к гепатиту В (HBsAg), ВИЧ 1&2 и HCV антител с отрицательным результатом, тем не менее, с ними следует обращаться с особой осторожностью.

Состав

Каждый пузырек нормальный и контроль патологический уровень содержит 2.0 мл лиофилизата, приготовленного из донорского пула человеческой сыворотки.

Приготовление: Разведите Кемтрол в 2.0 ml деионизированной или дистиллированной воды. Плавнo перемешать и дать отстояться при комнатной температуре в течение 20 минут. Перед использованием необходимо перемешать.

Хранение и стабильность

Закрытые флаконы устойчивы до указанной даты окончания срока действия, при условиях хранения, указанных на упаковке. Разведенные контроли устойчивы в течение 5 дней, при хранении в холодильнике (2÷6°C) или 4 недели при -20°C. **Признаки порчи контролей:** на лиофилизате появляется светло-желтый налет.

ПРЕДЕЛЫ

Результаты, полученные при использовании контрольной сыворотки зависят от нескольких факторов, связанных с используемыми методами и оборудованием.

Использование тест-систем других производителей (не компании Хелена), могут привести к получению значений, которые отличаются от тех, что напечатаны в паспортном листе.

Аналитические характеристики

Ожидаемые средние значения и диапазоны концентраций для кемтрол контроля с нормальным и патологическим уровнем напечатаны в паспорте. Значение общего белка определяется с помощью биуретового метода¹. В силу различных методов и методологий, рекомендуется, чтобы каждая лаборатория определяла общий белок на системах для



Тел. +44 (0)191 482 8440
Факс +44 (0)191 482 8442
Эл. почта info@helenabiosciences.com
www.helenabiosciences.com

Helena Biosciences Europe Queensway South,
Team Valley Trading Estate, Gateshead,
Tyne and Wear, NE11 0SD, United Kingdom

1

электрофореза производства Хелена. Другие системы электрофореза могут дать другие значения, поэтому рекомендуется, чтобы те лаборатории, которые используют другие системы создавали свои собственные пределы. Эти значения должны быть лот-специфичны.

Всегда проверяйте соответствие номера лота на флаконе номеру лота в паспорте.

Литература

1. Gornal, A.E. et al., *Determination of Serum Proteins by Means of the Biuret Reaction*. *J. Biol Chem*, 177:751, 1944.



Тел. +44 (0)191 482 8440
Факс +44 (0)191 482 8442
Эл. почта info@helena-biosciences.com
www.helena-biosciences.com

Helena Biosciences Europe Queensway South,
Team Valley Trading Estate, Gateshead,
Tyne and Wear, NE11 0SD, United Kingdom

Краситель "Пунцовый S" для белков - Ponceau S

НАЗНАЧЕНИЕ

Multi-purpose protein stain, especially useful for serum proteins and alkaline hemoglobins on cellulose acetate. Dissolve in 1000 mL deionized water.

Краситель "Пунцовый S" является универсальным реагентом для приготовления окрашивающего раствора для определения белковых фракций и щелочного гемоглобина на ацетатцеллюлозных мембранах.

ПРИНЦИП МЕТОДА

Принцип электрофоретического разделения белков основан на различной скорости движения молекул белков сыворотки крови в постоянном электрическом поле определённой напряженности. Разделённые белковые фракции окрашиваются красителем. Интенсивность окраски белковых фракций пропорциональна их количеству.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Все реагенты предназначены только для диагностического использования в условиях *in-vitro*. Не глотать и не пипетировать ртом ни один компонент набора. Надевать перчатки при работе со всеми компонентами набора. См. паспорт безопасности химического вещества, положения о рисках и обеспечении безопасности, а также информацию об утилизации.

СОСТАВ

1. Краситель "Пунцовый S"

Состав: в набор входит пакет содержащий 105 гр. сухого красителя.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ ОКРАШИВАЮЩЕГО РАСТВОРА

Растворите пакет в 1000 мл деионизированной воды. Аккуратно перемешайте и отфильтруйте полученный раствор. Приготовленный окрашивающий раствор хранится при комнатной температуре до 6 месяцев.

УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И СРОК ГОДНОСТИ

Набор необходимо хранить при комнатной температуре в упаковке предприятия-изготовителя в течение всего срока годности (18 месяцев).

ПРИМЕНЕНИЕ

Краситель "Пунцовый S" используется только с оборудованием, реагентами и аксессуарами производства компании Helena. Инструкция по применению приведена в руководстве к анализаторам.



Тел. +44 (0)191 482 8440
Факс +44 (0)191 482 8442
Эл. почта info@helena-biosciences.com

www.helena-biosciences.com

Helena Biosciences Europe Queensway South,
Team Valley Trading Estate, Gateshead,
Tyne and Wear, NE11 0SD, United Kingdom

Раствор очищающий фон мембраны - Clear aid solution

НАЗНАЧЕНИЕ

Раствор очищающий фон мембраны не позволяет ацетат целлюлозе окрашиваться, тем самым сокращается время процедуры очистки фона. Процесс очистки фона происходит за счет добавления раствора очищающего фон мембраны, который содержит высокомолекулярные эластомеры, к ацетатцеллюлозной мембране. Данный процесс применяется для определения белковых фракций и изоформов гемоглобина в щелочной среде и подробно описан в соответствующих руководствах.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Все реагенты предназначены только для диагностического использования в условиях *in vitro*. Не глотать и не пипетировать ртом ни один компонент набора. Надевать перчатки при работе со всеми компонентами набора. См. паспорт безопасности химического вещества, положения о рисках и обеспечении безопасности, а также информацию об утилизации.

СОСТАВ

1. Раствор очищающий фон мембраны

Состав: в набор входит 1 флакон содержащий 250 ml раствора очищающего фон мембраны.

УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И СРОК ГОДНОСТИ

Жидкость следует хранить при температуре 15-30 °C, в этом случае она сохраняет стабильность до окончания срока годности, указанного на ярлыке.

ПРИМЕНЕНИЕ

Раствор очищающий фон мембраны используется только с оборудованием, реагентами и аксессуарами производства компании Helena. Инструкция по применению приведена в руководстве к анализаторам.



Тел. +44 (0)191 482 8440
Факс +44 (0)191 482 8442
Эл. почта info@helenabiosciences.com

www.helena-biosciences.com

Helena Biosciences Europe Queensway South,
Team Valley Trading Estate, Gateshead,
Tyne and Wear, NE11 0SD, United Kingdom

Раствор промывочный для капилляров для прибора V8- V8 Capillary rinse.

НАЗНАЧЕНИЕ

Раствор промывочный для капилляров для прибора V8 применяется для очистки капилляров от белковых загрязнений. Используется только для работы с системой капиллярного электрофореза V-8 производства компании Helena (UK).

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Все реагенты предназначены только для диагностического использования в условиях *in-vitro*. Не глотать и не пипетировать ртом ни один компонент набора. Надевать перчатки при работе со всеми компонентами набора. См. паспорт безопасности химического вещества, положения о рисках и обеспечении безопасности, а также информацию об утилизации.

СОСТАВ

1. V8 промывочный раствор для капилляров

Состав: в набор входит 1 флакон содержащий 100 ml промывочного раствора. Промывочный раствор готов к употреблению.

УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И СРОК ГОДНОСТИ

Промывочный раствор следует хранить при температуре 15-30 °C, в этом случае он сохраняет стабильность до окончания срока годности, указанного на ярлыке.



Тел. +44 (0)191 482 8440
Факс +44 (0)191 482 8442
Эл. почта info@helena-biosciences.com

www.helena-biosciences.com

Helena Biosciences Europe Queensway South,
Team Valley Trading Estate, Gateshead,
Tyne and Wear, NE11 0SD, United Kingdom

Раствор фиксирующий для иммунофиксации белков - Serum fixative.

НАЗНАЧЕНИЕ

Фиксирующий раствор для иммунофиксации белков применяется для демонстрации эталонной разгонки всех фракции белков в сыворотке. В дальнейшем электрофореграмму с фиксирующим раствором будут сравнивать с пробой сыворотки, в которую была добавлена антисыворотка к определенным тяжелым или легким цепям. Фиксирующий раствор используется только при иммунофиксации сыворотки, для иммунофиксации мочи используется антисыворотка к белкам мочи.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Все реагенты предназначены только для диагностического использования в условиях *in-vitro*. Не глотать и не пипетировать ртом ни один компонент набора. Надевать перчатки при работе со всеми компонентами набора. См. паспорт безопасности химического вещества, положения о рисках и обеспечении безопасности, а также информацию об утилизации.

СОСТАВ

1. Фиксирующий раствор для иммунофиксации белков

Состав: в набор входит 1 флакон, содержащий 2 ml фиксирующего раствора, состоящего из уксусной и сульфосалициловая кислоты.

2. Другие компоненты набора

Каждый набор содержит инструкцию по применению.

УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И СРОК ГОДНОСТИ

Фиксирующий раствор следует хранить при температуре 2-6°C, и он стабилен до истечения срока годности, указанного на этикетке. Открытые флаконы, стабильные в течение 4 недель.

ПРИМЕНЕНИЕ

Фиксирующий раствор используется только с оборудованием и гелями производства компании Helena. Пошаговая инструкция приведена в руководстве к анализаторам.



Тел. +44 (0)191 482 8440
Факс +44 (0)191 482 8442
Эл. почта info@helena-biosciences.com

www.helena-biosciences.com

Helena Biosciences Europe Queensway South,
Team Valley Trading Estate, Gateshead,
Tyne and Wear, NE11 0SD, United Kingdom

Реагент гемолизирующий - Haemolysate reagent

НАЗНАЧЕНИЕ

Гемолизирующий реагент применяется для проведения гемолиза эритроцитов при выполнении следующих методик: «Щелочной гемоглобин», «Кислый гемоглобин» и «Изоэлектрофокусирование гемоглобинов».

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Все реагенты предназначены только для диагностического использования в условиях *in-vitro*. Не глотать и не пипетировать ртом ни один компонент набора. Надевать перчатки при работе со всеми компонентами набора. См. паспорт безопасности химического вещества, положения о рисках и обеспечении безопасности, а также информацию об утилизации.

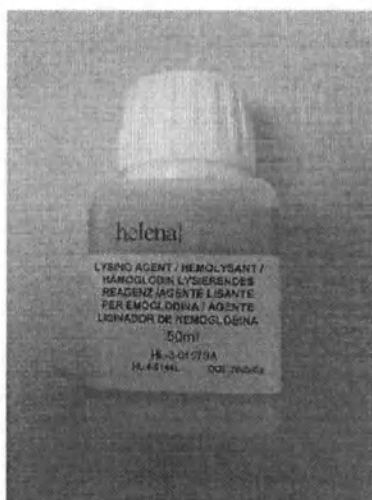
СОСТАВ

1. Гемолизирующий реагент

Состав: в набор входит 1 флакон содержащий 50 ml гемолизирующего реагента.

УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И СРОК ГОДНОСТИ

Жидкость следует хранить при температуре 15-30 °C, в этом случае она сохраняет стабильность до окончания срока годности, указанного на ярлыке.



Тел. +44 (0)191 482 8440
Факс +44 (0)191 482 8442
Эл. почта info@helena-biosciences.com

www.helena-biosciences.com

Helena Biosciences Europe Queensway South,
Team Valley Trading Estate, Gateshead,
Tyne and Wear, NE11 0SD, United Kingdom

Тест-система «Мембраны Ацетатцеллюлозы для электрофореза белков Titan III»

Инструкция по применению

НАЗНАЧЕНИЕ

Процедура для электрофореза белка сыворотки от Helena предназначена для разделения и количественного подсчета белка в сыворотке на ацетатцеллюлозе при помощи электрофореза.

Сыворотка содержит более сотни различных белков, каждый из которых имеет специфический набор функций и при различных патологических условиях концентрация изменяется по определенной схеме. Со времени введения электрофореза с подвижными границами Тизелиусом (Tiselius)² и последующего использования зонного электрофореза, на основании электрического заряда белки сыворотки были подразделены на 5 классических групп: альбумин, альфа1, альфа2, бета и гамма протеины. Каждая из этих классических электрофоретических зон (за исключением альбумина) обычно содержит два и более компонентов. Подробно изучено приблизительно пятнадцать белков сыворотки, так как их достаточно легко измерять.

Белки это большие молекулы, ковалентно связанные с аминокислотами. В зависимости от распределения электронов, приводящих к ковалентной или ионной связи структурных подгрупп, белки имеют различные электрические заряды при заданном pH. В данной процедуре белки разделяются в соответствии с их электрическими зарядами при pH 8,8 на ацетатцеллюлозе при помощи электрофоретического и электроэндоосмотического воздействия системы. После разделения белков, мембрана помещается в раствор сульфосалициловой и трихлоруксусной кислоты (чтобы обездвижить белки) и краситель Ронсеау S (чтобы окрасить полосы). Интенсивность окрашивания связана с концентрацией белка. После высушивания в метаноле и обработки чистящим раствором фон мембраны становится прозрачным.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Все реагенты предназначены только для *in vitro* диагностики. Не глотать и не пипетировать ртом любой из компонентов набора. Надевайте подходящие перчатки при работе со всеми компонентами набора. Сообщения о безопасности и риске, а также информация по утилизации приведена в инструкции по применению.

СОСТАВ

1. Titan III Cellulose Acetate Plate (мембрана ацетатцеллюлозы Titan III), код 3023 или 3024

Содержит мембрану ацетатцеллюлозы. Порядок приготовления приведен в инструкции по применению.

2. Ponceau S Stain (пунцовый краситель S) код 5526

Краситель поставляется в виде порошка и является смесью пунцового S и сульфосалициловой кислоты. Растворите содержимое бутылки в 1 литре деионизированной воды и смешивайте в течении 30 минут или до полного растворения.

3. Electra® HR Buffer (буфер), код 5805

Содержит трис-барбитал, буфер барбитала натрия, pH 8,6-9,0. Растворите одну упаковку сухого буфера в 750 мл очищенной воды. Буфер готов к использованию, когда весь материал растворится и полностью перемешается.

4. Clear Aid (очиститель), код 5005

Содержит полиэтиленгликоль. Чтобы приготовить чистящий раствор, смешайте 30

частей ледяной уксусной кислоты, 70 частей чистого метанола и 4 части Clear Aid.
Тщательно перемешайте.

5. Другие компоненты набора

В каждом наборе имеется инструкция по применению.

ХРАНИЕНИЕ И СРОК ГОДНОСТИ

1. Titan III Cellulose Acetate Plate (мембрана ацетатцеллюлозы Titan III), код 3023 или 3024

Мембрана ацетатцеллюлозы, хранимая при температуре от 15 до 30°C, стабильна до окончания срока годности, указанного на этикетке.

2. Ponceau S Stain (пунцовый краситель S) код 5526

Краситель допускается хранить при температуре от 15 до 30°C в плотно закрытой специальной посуде или в оригинальной упаковке. Неиспользованный краситель стабилен в течение всего срока годности, указанного на этикетке. Признаками порчи являются избыточное испарение или появление большого количества осадка.

3. Electra® HR Buffer (буфер), код 5805

Буфер в упаковке стабилен в течение всего срока годности, указанного на этикетке. Разбавленный буфер стабилен в течении 2 месяцев в герметичном контейнере при 15...30°C. Признаками порчи являются влажность или потеря цвета вещества, либо помутнение.

4. Clear Aid (очиститель), код 5005

Clear Aid при 15...30°C стабилен в течение всего срока годности, указанного на этикетке. Признаками порчи являются сильное загрязнение или потеря цвета. Выбросьте, если после очистки пластина остается мутной.

СБОР И ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦОВ

Рекомендуемым образцом является сыворотка. Не следует использовать образцы плазмы, так как фибриноген проявится в виде яркой узкой полосы между фракциями бета и гамма. Спинномозговую жидкость допускается использовать в случае, если ее концентрация будет повышена в 100 раз; мочу – в 300 раз, в зависимости от первичной концентрации белков.

Воздействие со стороны других факторов:

1. Гемолиз может вызывать ложный подъем во фракциях альфа2 и бета.
2. В случае, если образцы были оставлены открытыми, из-за испарения возможно получение неточных результатов.

Хранение и стабильность: следует использовать свежесобранную сыворотку или плазму. Для более продолжительного периода хранения образцы допускается хранить при температуре 2...6°C до 48 часов. Образцы спинномозговой жидкости и мочи допускается использовать после увеличения их концентрации.

НЕОБХОДИМЫЕ МАТЕРИАЛЫ, НЕ ВХОДЯЩИЕ В КОМПЛЕКТ ПОСТАВКИ

5% уксусная кислота: добавьте 50 мл ледяной уксусной кислоты к 950 мл очищенной воды.

Реагент – очищенный метанол

Код 3024	мембраны ацетатцеллюлозы Titan® III (94 x 76 мм)
Код 3023	мембраны ацетатцеллюлозы Titan® III Cellulose Acetate Plates (60 x 76 мм)
Код 4084	аппликатор Super Z Applicator
Код 4090	аппликатор Super Z-12 Applicator
Код 4085	пластина с ячейками для образцов Super Z-12 Sample Well Plate (2)
Код 4096	пластина с ячейками для образцов Super Z-12 Sample Well Plate (2)
Код 4094	основание для выравнивания Super CPK Aligning Base
Код 4086	основание для выравнивания Super Z Aligning Base
Код 5114	набор для окрашивания 700 Staining Set
Код 5122	набор для окрашивания 1000 Staining Set
Код 5526	пунцовый краситель Ponceau S
Код 5093	буферизатор Bufferizer
Код 5005	очиститель Clear Aid
Код 5090	препарат Zip Zone® Prep
Код 1283	камера Zip Zone® Chamber

Код 5081	фитили для камеры Zip Zone® Chamber Wicks
Код 5037	мембраны для блоттера Blotter Pads (102 x 108 мм)
Код 5034	мембраны для блоттера Blotter Pads (76 x 102 мм)
Код 5805	буфер Eiectra® HR Buffer
Код 5053	пластиковые конверты Titan Plastic Envelopes (102 x 120 мм)
Код 5052	пластиковые конверты Titan Plastic Envelopes (63 x 120 мм)
Код 6008	микродиспенсер и пробирки
Код 8008	микровытяжка (220 В)
Код 5205	руководство по электрофорезу
Код 5211	формы отчета Serum Protein Report Forms
Код 5000	маркер Helena Marker
Код 5109	таблица контроля качества Quality Control Chart
Код 5015	идентификационные наклейки Titan
Код 5002	клей-карандаш

ПОШАГОВАЯ ПРОЦЕДУРА

1. Нанесите требуемые коды на мембраны Titan III при помощи маркера Helena на твердую (майларную) блестящую сторону. Пометку следует наносить в одном из углов, чтобы она постоянно была выровнена относительно образца №1.
2. Замочите мембраны в HR буфере в течении 20 минут. Мембраны необходимо замачивать в буферизаторе согласно имеющимся инструкциям. Либо их можно намочить аккуратно и равномерно опуская стойку с мембранами в буфер, проверяя, что между мембранами не остается пузырьков воздуха. **ПРИМЕЧАНИЕ:** буфер допускается использовать для замачивания до 12 мембран или в течении приблизительно одной недели при условии хранения в герметичном контейнере. В случае более продолжительного использования остатки растворителей от мембран могут накапливаться в буфере, либо концентрация буфера может измениться из-за испарения.
3. Налейте приблизительно 100 мл разбавленного HR Buffer в каждую из внешних частей камеры.
4. Смочите два одноразовых фитиля в буфере и закрепите на каждом из поддерживающих мостиков, убедившись, что они контактируют с буфером и под фитилем отсутствуют пузырьки воздуха.
5. Накройте камеру, чтобы предотвратить испарение буфера.
6. При помощи микродиспенсера в каждую ячейку пластины для образцов поместите по 3 мкл образца. Сначала сформируйте каплю на кончике стеклянной трубки, а затем прикоснитесь ей к ячейке. Закройте образцы стеклом, если не планируете их использовать в ближайшие 2 минуты.
7. Прокачайте аппликатор погружая наконечник в ячейки с образцом 3-4 раза. Нанесите этот объем на кусочек промокательной бумаги. НЕ ЗАПОЛНЯЙТЕ аппликатор повторно и переходите к следующему шагу.
8. Извлеките влажную мембрану из буфера и плотно прижмите двумя блоттерами. Перед размещением мембраны на основании, на его центр поместите каплю воды или буфера. Это предотвращает смещение пластины во время размещения образца. Поместите мембрану на основание, стороной с ацетатцеллюлозой вверх, выровняйте нижний край пластины по черной линии с подписью "CENTER APPLICATION" (точка приложения катода). Идентификационный знак следует выровнять с образцом №1.
9. Нанесите образец на пластину поместив наконечник аппликатора в ячейки с образцом 3-4 раза, а затем переместив аппликатор на основание. Нажмите на кнопку и удерживайте в течении 5 секунд.
10. Поместите мембрану(ы) в камеру, стороной с ацетатцеллюлозой вниз. Поместите груз на мембрану(ы), чтобы обеспечить плотное прилегание фитилей. Плотно закройте камеру и подождите 30 секунд, для равномерной обработки мембран(ы).
11. Подвергните электрофорезу на 15 минут при 180 В. Примечание: ток необходимо включить не позднее 5 минут после установки мембран в камеру.
12. После электрофореза удалите мембраны из камеры и поместите в 40-50 мл красителя Ponseau S на 6 минут. (При окрашивании 2 и более пластин их следует разместить в

стойке вертикально. Примечание: краситель допускается использовать повторно до тех пор, пока на фоне мембраны будет наблюдаться осажденный краситель.

13. Промойте 3 раза по 2 минуты в 5% уксусной кислоте или до тех пор, пока фон не станет белым. Мембраны можно высушить и хранить в качестве записи текущего состояния. Если необходим прозрачный фон (например, при денситометрии) перейдите к следующему шагу.
14. Ополосните мембрану 2 раза в чистом метаноле, каждое ополаскивание должно длиться 2 минуты. Подождите 5-10 секунд перед помещением в следующий раствор, чтобы мембрана подсохла.
15. Поместите мембраны в чистящий раствор на 5-10 минут.
16. Слейте излишки раствора, затем поместите мембрану стороной с ацетатцеллюлозой вверх на блоттерную пластину и в сушилку при 50...60°C на 15 минут или до высыхания.

Оценка белковых полос

Отсканируйте пластины при помощи денситометра и 525 нм фильтра и узкого шаблона.

Стабильность конечного продукта

Высушенные мембраны стабильны в течении продолжительного промежутка времени и могут храниться в пластиковых конвертах Titan Plastic Envelopes.

Калибровка

Пластинку для проверки оптической плотности (Optical Density Step Tablet, код 1030) следует использовать, чтобы обеспечить линейность прибора, а стандарт нейтральной плотности (Neutral Density Densitometer Standard) для проверки нулевой отметки и чувствительности денситометра.

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ^{5,7}

Наиболее быстро перемещающаяся полоса и, как правило, наиболее заметная, является полоса альбумина, расположенная ближе всего к анодному краю пластины. Неяркая полоска рядом с ней – это альфа-глобулин, после него идет альфа2-глобулин, бета и гамма глобулины.

Вычисление неизвестного

Денситометр Helena BioSciences CliniScan™ и другие денситометры Helena с компьютерным оборудованием автоматически выведут на печать относительные процентные и абсолютные значения по полосам. Либо, относительное процентное содержание каждой полосы можно рассчитать вручную по интегратору шкалы для сканера. Дальнейшие действия приведены в Руководстве по эксплуатации денситометра. Относительный процент для каждой полосы рассчитывается по следующей формуле:

$\frac{\text{Кол-во интегр. единиц в полосе}}{\text{Общее кол-во интегр. единиц}} \times 100 = \text{Относ. процент полосы}$

Общее кол-во интегр. единиц

Относ. процент полосы x Общий белок в сыворотке = Абсол. знач. для белка в каждой полосе.

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

С наборами для электрофореза белка в сыворотке можно использовать два типа материалов для контроля качества с нормальным диапазоном. Для каждой мембраны используйте хотя бы один из этих контролей.

Код 5112 контроль для электрофореза сыворотки Electrophoresis Serum Control

Код 7024 нормальный контроль для сыворотки Kemtrol Serum Control-Normal

РЕФЕРЕНСНЫЕ ЗНАЧЕНИЯ

Ожидаемые значения при электрофорезе белка в сыворотке на ацетатцеллюлозе, окрашенной Ponceau S были определены в ходе исследования 51 нормального пациента. Данные значения даны лишь в качестве иллюстрации. Каждая лаборатория должна определить свои собственные интервалы.

Фракция белка	Диапазон гд/л
Альбумин	3,63 - 4,91
Альфа1	0,11 - 0,35
Альфа2	0,65 - 1,17

Бета	0,74 - 1,26
Гамма	0,58 - 1,74

Изменения в ожидаемых значениях

Исследования показали, что значения совпадают для мужчин и небеременных женщин. (Некоторые различия наблюдаются для беременных женщин и женщин, принимающих оральные контрацептивы). Небольшое влияние на концентрацию оказывает и возраст пациента. В пуповинной крови концентрация общего белка, альбумина, альфа₂ и бета фракций понижена, для альфа₁ - несколько повышена, и нормальная или повышенная для γ фракций (в основном материнского происхождения). Приблизительно в возрасте 3 месяцев концентрация гамма значительно сокращается, в то время как остальные фракции достигают значений как у взрослых. Концентрация гаммаглобулинов как у взрослого достигается только в 10-16 лет. Альбумин падает, а бетаглобулины повышаются к 40 годам.

Результаты здоровых людей, как правило, покрывают возрастные и гендерные вариации, а также ежедневные биологические изменения. Заболевания, при которых наблюдаются аномальные результаты, включают: ответ на воспаление, ревматические заболевания, заболевания печени, потеря белка, нарушения клеток плазмы и генетические дефициты. Во время беременности также наблюдаются различные рисунки.

Требуется дальнейшее тестирование

Электроферограмму или результаты денситометрии белка сыворотки необходимо изучить на наличие аномалий. Если наблюдаются аномалии, следует включить соответствующие вспомогательные анализы. Которые могут включать: иммуноэлектрофорез, иммунофиксацию, количественную оценку отдельных компонентов иммуноглобулинов, анализ костного мозга и другие необходимые анализы.

РАБОЧИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Нормальная сыворотка была проанализирована 26 раз при помощи метода, описанного выше. Были получены следующие результаты.

Фракция белка	Сред. (Относ. %)	SD (+/-)	CV (%)
Альбумин	55,7	1,4	2,5
Альфа ₁	3,1	0,4	12,5
Альфа ₂	11,3	0,4	3,8
Бета	11,6	0,5	4,0
Гамма	18,1	0,6	3,5

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Alper, C.A., *Plasma Protein Measurements as a Diagnostic Aid*, *N Eng J Med*, 291:287-290, 1974.
2. Tiselius, A., *A New Approach for Electrophoretic Analysis of Colloidal Mixtures*, *Trans Faraday Soc*, 33:524-531, 1937.
3. Ritzmann, S.E. and Daniels, J.C., *Diagnostic Proteinology: Separation and Characterization of Proteins. Qualitative and Quantitative Assays in Laboratory Medicine*, Harper and Row Inc., Hagerstown, 1979.
4. Ritzmann, S.E. and Daniels, J.C., *Serum Protein Abnormalities: Diagnostic and Clinical Aspects*, Little, Alan R. Liss Inc., 1982.
5. Kjellingsworth, L.M. et al, *Protein Analysis*, *Diag Med*, Jan/Feb., 47-58, 1980.
6. Henry, R.J., Cannon, D.C., and Winkelman, J.W., ed., *Clinical Chemistry Principles and Techniques*, 437, Harper and Row, Hagerstown, 1974.
7. Killingsworth, L.M., *Plasma Protein Patterns in Health and Disease*, *CRC Crit Rev in Clin Lab Sci*, 1-30, August, 1979.

Helena Biosciences Europe
Queensway South
Team Valley Trading Estate, Gateshead
Tyne and Wear, NE11 0SD
Тел.: +44 (0)191 482 8440
Факс: +44 (0)191 482 8442
E-mail: info@helena-biosciences.com
www.helena-biosciences.com

HL-2-1438P 2007/08 (5)

Тест-система «Мембраны Ацетатцеллюлозы для электрофореза гемоглобина Titan III»

Инструкция по применению
КОД 3023

ПРЕДПОЛАГАЕМОЕ ИСПОЛЬЗОВАНИЕ

Электрофорез гемоглобина от Helena с применением ацетатцеллюлозы в алкалиновом буфере предназначен для количественного и качественного определения аномальных гемоглобинов.

Гемоглобины (Hb) являются группой белков, основной функцией которых является перенос кислорода от легких к тканям и диоксида углерода в обратном направлении. Они состоят из полипептидных цепочек называемых глобин и групп гемма протопорфирина железа. Специфическая последовательность аминокислот составляет каждую из четырех полипептидных цепей, которые обозначены как α , β , γ и δ . Две другие цепи – ξ и Z , формируются у эмбриона. Каждая нормальная молекула гемоглобина содержит одну пару альфа и одну пару не-альфа цепей. У здорового взрослого не-альфа цепи гемоглобина (HbA) называются бета-цепями, а структура записывается как $\alpha_2\beta_2$. Не-альфа цепи гемоглобина плода называются гамма, а структура записывается как $\alpha_2\gamma_2$. Небольшая часть гемоглобина (3%) называемая HbAg содержит альфа и дельта цепи, а структура записывается как $\alpha_2\delta_2$. В случае наследственной ингибиции синтеза глобиновых цепей (при талассемии), не-альфа цепи могут агрегировать и формировать HbH (β_4) или Hb Барта (α_4). Помимо глобина, каждая молекула гемоглобина содержит четыре группы гемма (по одной на каждую цепь), расположенные в «карманах», сформированных складыванием цепей. В основном в эритроцитах здорового взрослого присутствует гемоглобин HbA, а также небольшие количества HbAg и HbF. Кроме того, на данный момент известно свыше 400 мутантных гемоглобинов, некоторые из которых могут вызывать серьезные клинические нарушения, особенно в гомозиготном состоянии или в комбинации с другим аномальным гемоглобином. Винтроуб (Wintrobe) подразделяет аномалии синтеза гемоглобина на следующие три группы:

1. Синтез аномальной молекулы белка (например, анемия серповидной клетки).
2. Уменьшение количества синтезируемого белка (например, при талассемии).
3. Аномалии развития (например, наследственная персистенция фетального гемоглобина (HbF)).

В США наиболее часто встречаются мутантные гемоглобины HbS и HbC. Также обнаруживаются Hb Lepore, E.G-Philadelphia, D-Los Angeles, и O-Arab. Электрофорез в общем случае считается наилучшим методом разделения и идентификации гемоглобинов, присутствующих в образце крови, а также оптимальным для электрофореза гемоглобина, при котором использует две системы для выполнения анализа. Первичный электрофорез выполняется в алкалинных буферах. Ацетатцеллюлоза является основной поддерживающей средой, так как обеспечивает быстрое разделение HbA, F, S, C и других мутантов за наименьшее время. Однако, так как наблюдается электрофоретическая схожесть нескольких структурно различных гемоглобинов, оценку следует дополнить методом, измеряющим какое-либо другое свойство, помимо электрического разряда. Простой метод, который подтверждает идентификацию HbS и HbC, а также HbA. Для HbF и других мутантов – электрофорез цитратного агара. Данный метод основывается на комплексном взаимодействии гемоглобина с электрофоретическим буфером (кислотный pH) и агарной подложкой. Электрофорез является простой процедурой, для которой необходимы лишь незначительные количества гемолизата, чтобы обеспечить подтверждение наличия HbS, HbC и HbF, а также нескольких других аномальных гемоглобинов с высокой (но не

абсолютной) точностью.

Очень небольшое количество образцов гемолизата приготавливается из цельной крови и наносится на мембрану ацетатцеллюлозы Titan III. Гемоглобины в образце разделяются при помощи электрофореза в алкалиновом буфере (pH 8,2-8,6) и помечаются пунцовым красителем Ponceau S. Полученный рисунок сканируется при помощи денситометра и определяется относительное содержание каждой компоненты.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Все реагенты предназначены только для *in vitro* диагностики. Не глотать и не пипетировать ртом любой из компонентов набора. Надевайте подходящие перчатки при работе со всеми компонентами набора. Фразы безопасности и риска, а также информация по утилизации приведены в инструкции по применению.

СОСТАВ

1. Ацетатцеллюлоза Titan III-H Cellulose Acetate, Код 3021 или 3022.

Содержит 25 мембран ацетатцеллюлозы размером 94 x 76 мм или 76 x 60 мм. Порядок приготовления приведен в инструкции по применению.

2. Supre-Heme® Buffer (буфер), код 5802

Данный буфер содержит трис-EDTA и борную кислоту. pH 8,2 – 8,6. Растворите одну упаковку буфера в 980 мл очищенной воды. Буфер готов к использованию, когда весь материал растворится и полностью перемешается.

3. Hemolysate Reagent (реагент гемолизата), код 5125

Реагент содержит 0,005 М EDTA и очищенной воды с добавлением 0,01% цианида калия в качестве консерванта. Реагент готов к использованию сразу из упаковки.

4. Ponceau S Stain (пунцовый краситель S) код 5526

Краситель поставляется в виде порошка и является смесью пунцового S и сульфосалициловой кислоты. Растворите содержимое бутылки в 1 литре деионизированной воды и смешивайте в течении 30 минут или до полного растворения.

5. Clear Aid (очиститель), код 5005

Реагент содержит полиэтиленгликоль. Clear Aid используется для подготовки чистящего раствора для пошаговой процедуры. Смешайте 30 частей ледяной уксусной кислоты, 70 частей чистого метанола и 4 части Clear Aid.

6. Другие компоненты набора

В каждом наборе имеется инструкция по применению.

ХРАНЕНИЕ И СРОК ГОДНОСТИ

1. Ацетатцеллюлоза Titan III-H Cellulose Acetate, Код 3021 или 3022. Мембрана ацетатцеллюлозы, хранится при температуре от 15 до 30°C, стабильна до окончания срока годности, указанного на этикетке.

2. Supre-Heme® Buffer (буфер), код 5802

Буфер в упаковке, хранимый при температуре от 15 до 30°C, стабилен до окончания срока годности, указанного на этикетке. Буферный раствор стабилен в течение 2 месяцев при 15...30°C. Признаками порчи являются влажность или потеря цвета вещества, либо признаки бактериологического загрязнения.

4. Hemolysate Reagent (реагент гемолизата), код 5125

Реагент, хранимый при температуре от 15 до 30°C, стабилен до окончания срока годности, указанного на этикетке.

5. Ponceau S Stain (пунцовый краситель S) код 5526

Краситель, хранимый при температуре 15...30°C, стабилен до окончания срока годности, указанного на этикетке. Храните в плотно закрытой бутылки или посуде для красителя. При условии надлежащего хранения допускается использовать краситель несколько раз. Признаками порчи являются избыточное испарение или появление большого количества осадка.

6. Clear Aid (очиститель), код 5005

Очиститель, хранимый при температуре 15...30°C, стабилен до окончания срока годности, указанного на этикетке. Храните приготовленный чистящий раствор в плотно закрытом контейнере, чтобы предотвратить испарение метанола. Из-за испарения мембраны могут начать расслаиваться. Загрязнение воды из-за частого использования чистящего раствора может привести к помутнению мембран.

СБОР И ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦОВ

Цельная кровь, собранная в пробирки, содержащие EDTA или гепарин. Подготовка образцов приведена в пошаговой процедуре. Образцы цельной крови допускается хранить не более 1 недели при температуре 2...6°C.

ЭЛЕКТРОФОРЕЗ ГЕМОГЛОБИНА ТИТАН III

Альтернативная процедура подготовки образца:

Если необходима дополнительная очистка пробы, выполните следующие действия:

- Поместите в центрифугу образцы крови при 3500 об./мин. на 5 минут.
- Удалите плазму из образца и промойте эритроциты три раза в 0,85% физиологическом растворе (объем/объем). После каждой промывки, проводите центрифугирование при 3500 об./мин, удаляйте верхний.
- Добавьте 1 часть очищенной воды и 1/4 часть толуола (или четыреххлористого углерода) к промытым эритроцитам.
- Поместите в вортেকсную мешалку на высокую скорость в течении 1 минуты.
- Поместите в центрифугу образцы при 3500 об./мин. на 10 минут.
- При использовании толуола, верхний слой в пробирке будет содержать строми клеток, которую следует удалить капиллярной пипеткой до перехода к следующему шагу процедуры. Прозрачный средний слой содержит требуемый образец. При использовании четыреххлористого углерода, все использованные эритроциты будут находится на дне пробирки после центрифугирования.
- Профильтруйте чистый красный раствор через 2 слоя фильтровальной бумаги Whatman №1.

НЕОБХОДИМЫЕ МАТЕРИАЛЫ, НЕ ВХОДЯЩИЕ В КОМПЛЕКТ ПОСТАВКИ

Код 5116 I.O.D

Код 1520 Цифровой блок питания EWS

Код 5802 буфер Supre Heme Buffer (10 x 14,6 г)

Код 5125 реагент гемолизата Hemolysate Reagent (1 x 250 мл)

Код 5526 пунцовый краситель Ponceau S

5% уксусная кислота

Очищенный метанол

Код 5005 очиститель Clear Aid (1 x 250 мл)

Код 5090 препарат Zip Zone® Prep

Код 5081 фитили Zip Zone® Chamber Wicks (500 шт. в упак.)

Код 5053 пластиковые конверты Titan Plastic Envelopes (12 образцов 100 шт. в упак.)

Код 5052 пластиковые конверты Titan Plastic Envelopes (200 шт.)

Код 5037 мембраны для блоттера Titan Blotter pads (100 шт. в упак. 89 x 108 мм)

Код 5034 мембраны для блоттера Titan Blotter Pads (100 шт. в упак. 76 x 102 мм)

Код 5000 маркер Helena marker

Код 5015 идентификационные наклейки

Код 5212 форма отчета Haemoglobin Report Form (100 шт. в упак.)

Код 5002 клей-карандаш

ПОШАГОВАЯ ПРОЦЕДУРА

1. Растворите одну упаковку буфера Supre-Heme в 980 мл очищенной воды.
2. Подпишите мембраны Titan III-H при помощи маркера Helena на твердой блестящей стороне.
3. Поместите требуемое количество мембран в буфер Supre-Heme на 5 минут. Мембраны необходимо замачивать в буферизаторе согласно имеющимся инструкциям. Либо их можно намочить аккуратно и равномерно опуская стойку с мембранами в буфер.
ПРИМЕЧАНИЕ: буфер допускается использовать для замачивания до 12 мембран или в течении приблизительно одной недели при условии хранения в герметичном контейнере. В случае более продолжительного использования, остатки растворителей от мембран могут накапливаться в буфере и привести к затрудненному разделению белков, либо концентрация буфера может повыситься из-за испарения.
4. Налейте приблизительно 100 мл Supre-Heme Buffer в каждую из внешних частей камеры.
5. Смочите два одноразовых фитиля в буфере и закрепите на каждом из

поддерживающих мостиков, убедившись, что они контактируют с буфером и под фитилем отсутствуют пузырьки воздуха.

в. Накройте камеру, чтобы предотвратить испарение буфера.

7. Подготовьте гемолизат образца пациента по следующей схеме:

а. Для цельной крови: добавьте 1 часть цельной крови к 3 частям реагента гемолизата. Тщательно перемешайте и оставьте на 5 минут.

б. Для отмытых эритроцитов: добавьте 1 часть отмытых эритроцитов к 6 частям реагента гемолизата (Haemolysate Reagent). Тщательно перемешайте и оставьте на 5 минут.

Примечание: если удаление химически обработанных гемоглобинов из образца необходимо, выполните действия, приведенные в альтернативной процедуре подготовки образца.

в. Поместите 5 мкл подготовленного гемолизата пациентов или 5 мкл хотя бы одного из контролей Helena Hemo Controls в ячейки мембран с образцом при помощи микродиспенсера. Примечание: контроли Hemo Controls от Helena допускается использовать сразу из пробирки. ЗАПРЕЩАЕТСЯ изгонивать из них гемолизат.

г. Если образцы не используются в течении 2 минут накройте мембрану с ячейками для образцов стеклом, чтобы предотвратить испарение.

10. Прокачайте аппликатор погружая наконечник в ячейки с образцом 3-4 раза. Нанесите этот объем на кусочек промокательной бумаги. НЕ ЗАПОЛНЯЙТЕ аппликатор повторно и переходите к следующему шагу.

11. Извлеките влажную пластину Titan III из буфера и плотно прижмите двумя блоттерами. Поместите мембрану на основание, стороной с ацетатцеллюлозой вверх, выровняйте нижний край пластины по черной линии с подписью "CATHODE APPLICATION" (точка приложения катода). Идентификационный знак следует выровнять с образцом №1. Перед размещением мембраны на основании, на его центр поместите каплю воды или буфера. Это предотвращает смещение пластины во время размещения образца.

12. Нанесите образец на пластину поместив наконечник аппликатора в ячейки с образцом 3-4 раза, а затем переместив аппликатор на основание. Нажмите на кнопку и удерживайте в течении 5 секунд.

13. Поместите мембрану в камеру, стороной с ацетатцеллюлозой вниз. Поместите груз на пластину, чтобы обеспечить плотное прилегание фитилей.

14. Подвергните электрофорезу на 25 минут при 350 В.

15. Удалите мембраны из камеры и поместите в краситель Ponceau S на 5 минут.

16. Три раза промойте 5% уксусной кислотой. Оставьте мембраны на 2 минуты при каждой промывке.

17. Мембраны можно высушить и хранить в качестве записи текущего состояния. Если необходим прозрачный фон (например, при денситометрии) перейдите к следующему шагу.

18. Проведите обезвоживание мембран в 2 промывках в чистом метаноле. Оставьте мембраны на 2 минуты при каждой промывке.

19. Поместите мембраны в чистящий раствор на 5-10 минут.

20. Извлеките мембраны из чистящего раствора и удалите избыток раствора.

21. Поместите мембрану стороной с ацетатцеллюлозой вверх на блоттерную пластину под микровытяжку или на сушилку при 56°C на 10 минут или до высыхания.

Оценка гемоглобиновых полос

1. Качественная оценка: мембраны допускается анализировать визуально на наличие аномальных гемоглобиновых полос. Контроли Hemo Controls от Helena предоставляют систему маркировки для идентификации полос.

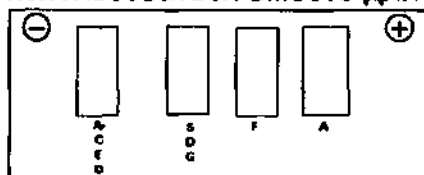
2. Количественная оценка: определите относительное процентное содержание каждой полосы гемоглобина путем сканирования очищенных и высушенных мембран денситометром с фильтром на 525 нм.

Стабильность конечного продукта: высушенные мембраны стабильны в течении продолжительного промежутка времени и могут храниться в пластиковых конвертах Titan Plastic Envelopes.

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

На рисунках 1 и 2 показано как электрофорез цитратного агара и ацетатцеллюлоза могут

использоваться вместе для идентификации гемоглобинов.



АЛКАЛИН НЬ

Рисунок 1. Электрофоретическая подвижность гемоглобинов в ацетатцеллюлозе Titan III.

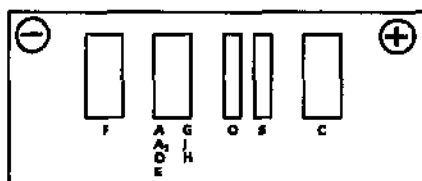


Рисунок 2. Электрофоретическая подвижность гемоглобинов на кислом геле Titan Hb показывает удаление возможных Hb мутантов.

Большинство вариантов гемоглобина не показывают значимых клинических симптомов, поэтому представляют скорее общенаучный интерес. Варианты являются клинически важными в случае, если их наличие приводит к нарушениям выработки серповидно-клеточных эритроцитов, синдрому талассемии, хроническому цианозу, гемолитическим анемиям или эритроцитозу, либо в случаях, если гетерозиготы обнаружены в количестве, достаточном для генетической консультаций. Комбинации Hb S-S, Hb S-D-Los Angeles и Hb S-O Arab приводят к серьезным нарушениям образования серповидных форм. Некоторые варианты, включая Hb H.E-Fort Worth и Lepore могут показывать картину талассемии.

В США наиболее часто встречаются два варианта гемоглобинов – HbS и HbC. Анемия серповидной клетки (HbSS) является тяжелым заболеванием, приводящим к летальному исходу. Первый раз данное заболевание можно обнаружить через 5-6 месяцев после начала. Клиническое течение болезни представляет собой агонию, приступы боли и повышения температуры, сопровождающиеся анемией, апатией и инфарктом состоянием практически всех органов тела. Люди с гомозиготным HbCC страдают от легкой гемолитической анемии, которая связана с преципитацией или кристаллизацией HbC в эритроцитах. Нарушения в HbSC характеризуются более мягкой гемолитической анемией, по сравнению с анемией серповидной клетки. Талассемия это группа гемоглобиновых нарушений, характеризующихся гипохромией и микроцитозом в следствии ухудшения синтеза одной из глобиновых цепей (α или β) в то время, как синтез другой цепи протекает нормально. Дисбаланс в синтезе приводит к нестабильности глобиновых цепочек. Они оседают в эритроцитах, формируя включения, которые сокращают жизненный цикл клетки.

При α -талассемии количество α -цепей уменьшено или отсутствует, при β -талассемии – страдают β -цепи. Другое количественное нарушение синтеза гемоглобина – наследственная персистенция фетального гемоглобина (HPFH) – представляет генетическое нарушение механизмов, отключающих синтез γ -цепей в возрасте 4 месяцев после рождения, что приводит к повышенному содержанию HbF. Это более доброкачественное состояние по сравнению с истинными талассемиями и люди с HPFH развиваются нормально, асимптоматичны и не имеют анемии.

Наиболее распространенные гемоглобинные аномалии:

Серповидно-клеточная аномалия эритроцитов

Данное гетерозиготное состояние показывает HbA и HbS, а также нормальное количество HbA2 на ацетацеллюлозе.

Результаты на цитратном агаре показывают гемоглобины в миграционных позициях (зонах) HbA и HbS.

Серповидно-клеточная анемия.

Данное гомозиготное состояние показывает в том числе и HbS, и небольшое количество HbF.

Заболевание серповидной клетки-C

Данное гетерозиготное состояние показывает HbS и HbC.

Серповидно-клеточная анемия-талассемия

При данном состоянии наблюдаются HbA, HbF, HbS и HbA2. При β -талассемии отсутствует HbA.

Заболевание талассемия-С

При данном состоянии наблюдаются HbA, HbF и HbC.

Заболевание С

Данное гомозиготное состояние практически исключительно HbC.

Основная талассемия

При данном состоянии наблюдаются HbA, HbF и HbA2.

Вычисление неизвестного: система Helena EDC. CliniScan и другие денситометры Helena с компьютерным оборудованием автоматически выведут на печать относительное процентное содержание полос.

Требуется дальнейшее тестирование, если:

Электрофорез на агарозе в цитратном буфере может быть необходим в качестве вспомогательного теста для последующего подтверждения аномальных гемоглобинов, определенных в ацетатцеллюлозе.

Анализ глобиновых цепей (кислотный и щелочной), а также анализ структуры может быть необходим для точной идентификации некоторых более редких гемоглобинов.

Метод анионообменной колоночной хроматографии является наиболее точным для количественной оценки HbA2. Рекомендуется использовать метод Sickie-Thai Quik Column от Helena BioSciences Europe при наличии HbS или Helena Beta-Thal HbA2 Quik Column. Количественная оценка HbA2 является одним из наиболее важных диагностических тестов при диагностировании аномалии β -талассемии.

Низкая концентрация HbF (1-10%) может быть точно оценена количественно при помощи метода радиальной диффузии в агар, набор HbF-QUIPlate от Helena.

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Компания Helena BioSciences Europe предлагает следующие контроли для электрофореза гемоглобина:

Код 5328 контроль AA2 Hemo Control

Код 5329 контроль ASA2 Hemo Control

Код 5330 контроль AFSA2 Hemo Control

Код 5331 контроль AFSC Hemo Control

Контроли следует использовать как маркеры для идентификации гемоглобинов, а также их можно подсчитать при проверке точности процедуры. Порядок миграции и значения анализа приведены в листах-вкладышах, поставляемых вместе с контролями. Для каждой мембраны используйте хотя бы один из этих контролей.

ОГРАНИЧЕНИЯ

Некоторые аномальные гемоглобины имеют схожую электрофоретическую подвижность и должны дифференцироваться при помощи других методов.

РЕФЕРЕНСНЫЕ ЗНАЧЕНИЯ

При рождении, большая часть гемоглобина в эритроцитах здорового ребенка - это фетальный гемоглобин HbF, также присутствуют некоторые из основных гемоглобинов взрослых HbA, и в небольших количествах HbA2. В конце первого года жизни и в период полового созревания, основной наблюдаемый гемоглобин - это HbA, также встречается до 3,5% HbA2 и менее 2% HbF.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Wintrobe, Maxwell M Cynical Hemaotogy 6th Edition. LaFebiger. Philadelphia. 1967.
2. Fairbanks, VF, Diagnostic Medicine. Nov/Dec, 53-58. 1980.
3. Schneider, RG, et al. Laboratory Identification of the Hemoglobins, Lab Management, August. 29-43. 1981.
4. Center for Disease Control. Laboratory Methods for Detecting Hemoglobinopathies, U.S., Department of Health and Human Services/Pub lie Health Service, 1984.
5. Schneider. RG. Method for Detection of Hemoglobin Variants and Hemoglobinopathies in the Routine Clinical Laboratory. CRC Clinical Reviews in Clinical laboratory Sciences, 1978.
6. Schneider, RG et al., Abnormal Hemoglobins in a Quarter Million People, Blood, 48(5);629-637. 1976.
7. Huisman. THJ and Schroeder. WA. New Aspects of the Structure, function, and Synthesis of Hemoglobins. CRC Press. Cleveland. 1971.
8. Schmidt, RM, et al. The Detection of Hemoglobinopathies, CRC Press, Cleveland. 1974.

9. Weatherall. DJ and Clegg JB. *The Thalassaemia Syndromes*. Blackwell Scientific Publications. Oxford, 1972.
10. Lehman, H and Huntsman RG. *Man's Haemoglobins*. JB. Lippincott Co., Philadelphia, 1974.

Helena Biosciences Europe
Queensway South
Team Valley Trading Estate, Gateshead
Tyne and Wear, NE11 0SD
Тел.: +44 (0)191 482 8440
Факс: +44 (0)191 482 8442
E-mail: info@helena-biosciences.com
www.helena-biosciences.com
HL-2-1435P 2010/02 (5)

Тест-система "Белки в моче с денатурацией ПАВ" для приборов SAS-1, SAS-3 - SAS-1, SAS-3 "URINE SDS".

НАЗНАЧЕНИЕ

Тест-система предназначена для скрининга неконцентрированных образцов мочи методом электрофореза в агарозном геле с денатурацией ПАВ.

Белки мочи образуются в первую очередь на основе белков плазмы, которые фильтруются почками. Присутствие аномальных белков плазмы в моче имеет важнейшее значение при оценке почечной функции. Соответствующее исследование протеинурии должно включать количественную и качественную оценки типов и количества выделяемых белков.¹⁻⁵

Плазмы фильтрации через клубочковой капиллярной ячейки дает жидкости: моча. Нормальная моча содержит некоторые физиологические альбумина и трансферрина и microproteins молекулярного веса менее 50000 Дальтон. Эти microproteins являются readsorbed в трубчатых ячеек, по catabolised почечных канальцев.

Физиологической концентрации белков в моче, как правило, около часа и 100mg/24 альбумина и трансферрина присутствуют в виде светлых полос на геле профиля. Наличие ненормальной полоса с Нормальная концентрация протеинурия (<0.1g/24h) должна быть идентифицирована путем immunofixation (Бенс-Джонса и другие). Наличие различных полос, связанных с высоким уровнем протеинурии необходимо дополнительной идентификации. SDS гель-электрофореза является отличной методологии выявления ненормальных белок в моче.

SAS-1 мочи SDS гель содержит высокую концентрацию агарозы в Трис / HEPES буфера анионных моющих средств (SDS - сульфата натрия додецилсульфата). В присутствии SDS, белки образуют SDS protein комплекса. Об обязательных SDS, любой родной заряд оказывается незначительным и все белки приобретают такое же соотношение масса заряда. SDS-белковые комплексы могут быть отделены друг от их молекулярного вес в просеивания агарозном геле.

Наличие полос в 20000 до 50000 Дальтон области должны быть определены по immunofixation и специфических сывороток.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Все реагенты предназначены только для диагностического использования в условиях in-vitro. Не глотать и не пипетировать ртом ни один компонент набора. Надевать перчатки при работе со всеми компонентами набора. См. паспорт безопасности химического вещества, положения о рисках и обеспечении безопасности, а также информацию об утилизации.

СОСТАВ

1. SAS-1 SDS Гель для анализа мочи

Содержит агарозу в Трис/барбитал буфере с тиомерсалом и азидом натрия в качестве консерванта и SDS в качестве детергента. Гель упакован готов к употреблению.

2. Краситель для белка в моче, концентрат

CE
Тел. +44 (0)191 482 8440
Факс +44 (0)191 482 8442
Эл. почта info@helena-biosciences.com
www.helena-biosciences.com

Helena Biosciences Europe Queensway South,
Team Valley Trading Estate, Gateshead,
Tyne and Wear, NE11 0SD, United Kingdom

Содержит концентрат кумасси синнего. Разбавьте содержимое бутылки до 1 литра с фиксирующим/обесцвечивающим раствором. Хорошо перемешайте и отфильтруйте перед использованием. Хранить в плотно закупоренной бутылке.

3. SDS дилуэнт

Содержит SDS в Трис / HEPES буфере с бромфеноловым синим. Азид натрия используется как консервант. Дилуэнт готов к использованию в упакованном виде.

4. Другие компоненты набора

Каждый набор содержит инструкцию по применению и достаточное количество промокательной бумаги В, С, D, X и гребенок-блоттеров для выполнения 10 гелей.

УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И СРОК ГОДНОСТИ

1. SAS-1 SDS Гель для анализа мочи

Гель следует хранить при температуре 15-30°C, в этом случае гели сохраняют стабильность до окончания срока годности, указанного на упаковке. НЕ ОХЛАЖДАТЬ И НЕ ЗАМОРАЖИВАТЬ. Испорченный гель можно определить по следующим признакам: 1) кристаллический внешний вид, который указывает на то, что гель был заморожен; 2) ломкость и отслаивание, свидетельствующие о высыхании геля; 3) видимое загрязнение агарозы бактериальными или грибковыми источниками.

2. Краситель для белка в моче, концентрат

Концентрат красителя следует хранить при температуре 15-30°C, в этом случае он сохраняет стабильность до окончания срока годности, указанного на ярлыке. Раствор красителя стабилен в течение 6 месяцев при температуре 15-30°C. Рекомендуется утилизировать использованный краситель незамедлительно в целях предотвращения снижения окрашивающей способности. Низкая эффективность окрашивания может указывать на порчу раствора красителя.

3. SDS дилуэнт

SDS дилуэнт должен храниться при температуре 15 ... 30 ° C, в этом случае он сохраняет стабильность до окончания срока годности, указанного на ярлыке. Мутность может указывать на ухудшение свойств раствора дилуэнта.

НЕОБХОДИМЫЕ КОМПОНЕНТЫ, НЕ ВКЛЮЧЕННЫЕ В НАБОР

1) SAS-1 Plus пользователи:

Cat. № 3100 REP Prep;

Сушильная печь с принудительной циркуляцией воздуха, поддерживающая 50 – 60 °C;
Фиксирующий/обесцвечивающий раствор: Смешать 300 мл метанола с 1300 ml очищенной воды. Добавить 400 мл ЛУК (ледяной уксусной кислоты);

Дистиллированная вода.

2), SAS-3 пользователи:

Cat. № 3100 REP Prep;

Cat. № 311200 SAS-3 адаптер

Сушильная печь с принудительной циркуляцией воздуха, поддерживающая 50 – 60 °C;



Тел. +44 (0)191 482 8440
Факс +44 (0)191 482 8442
Эл. почта info@helena-biosciences.com

www.helena-biosciences.com

Helena Biosciences Europe Queensway South,
Team Valley Trading Estate, Gateshead,
Tyne and Wear, NE11 0SD, United Kingdom

Фиксирующий/обесцвечивающий раствор: Смешать 300 мл метанола с 1300 ml очищенной воды. Добавить 400 мл ЛУК (ледяной уксусной кислоты);

Дистиллированная вода

III), SAS-M1 пользователи:

Cat. № 3100 REP Prep

Cat. № 211000 SAS-M1

Cat. № 1525 EPS600 (источник питания)

Сушильная печь с принудительной циркуляцией воздуха, поддерживающая 50 – 60 °C;

Фиксирующий/обесцвечивающий раствор: Смешать 300 мл метанола с 1300 ml очищенной воды. Добавить 400 мл ЛУК (ледяной уксусной кислоты);

Дистиллированная вода

ОТБОР И ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦОВ

Предпочтение следует отдать свежесобранному образцу мочи. Образцы мочи допускается хранить в охлажденном виде при 2-6°C до 72 часов или в течение 2-х недель при -20°C. Образцы мочи первично следует использовать без повышения концентрации или разбавления, кроме случаев, когда известно, что общий белок превышает 1000 мг/л. Если концентрация менее 1000 мг/мл, концентрируйте, как показано ниже:

Концентрация белка	Концентрирование
< 100 мг/мл	5 раз
< 50 мг/мл	10 раз
< 20 мг/мл	30 раз

Интерферирующие факторы: 1) неточные результаты могут быть получены на образцах, не покрытых, из-за испарения.

Примечание для SAS-M1 пользователей: Охлаждающий блок должен быть охлажден до температуры +2 ... +6 ° C, т.е. за ночь до использования, и по меньшей мере должен охлаждаться 30 минут между запусками.

ПОШАГОВАЯ ПРОЦЕДУРА

К каждой аликвоте мочи - 80µl добавить 20µl растворителя SDS. Дайте отстояться образцам в течение 3-5 минут примерно при 100 ° C. Проведите центрифугирование при 6000 об в течение 3 минут. Соберите супернатант.

2 Извлечь гель из упаковки и положить на бумажное полотенце. Промокнуть поверхность геля промокательной бумагой C, утилизировать бумагу.

3. Совместите шаблон для нанесения образцов со стрелками на краю геля. Промокните блоттером место в верхней части шаблона и потрите пальцем по щели, чтобы обеспечить хороший контакт. Удалить блоттер и сохраните его для использования в Шаг 5.

4. Нанесите 5 мкл образца в каждую щель и позвольте ей абсорбироваться в течение 12 минут.

5. После поглощения образца, промокните шаблон блоттером SDS сохраненным на шаге 3, и удалите блоттер вместе с шаблоном.

6. я) SAS-1 Plus пользователи: Нанести 400µl REP Prep на теплоотвод. Поместить гель на теплоотвод стороной с агарозой вверх, совместив положительные и отрицательные стороны с соответствующими стойками электродов, при этом следует исключить попадание пузырьков воздуха под гель.



Тел. +44 (0)191 482 8440
Факс +44 (0)191 482 8442
Эл. почта info@helena-biosciences.com

www.helena-biosciences.com

Helena Biosciences Europe Queensway South,
Team Valley Trading Estate, Gateshead,
Tyne and Wear, NE11 0SD, United Kingdom

II), SAS-3 пользователи: Поместить направляющую на штырьки и нанести 400µл REP Преп на центр камеры. Поместить гель в камеру стороной с агарозой вверх, с использованием направляющей, совместив положительные и отрицательные стороны с соответствующими стойками электродов, при этом следует исключить попадание пузырьков воздуха под гель.

III), SAS-M1 пользователи: Нанести 400µл REP Преп на охлаждающий блок. Положите гель на центр охлаждающего блока, агарозной стороной вверх, исключить попадание пузырьков воздуха под гель.

7. I) SAS-1 Plus пользователи: Закрепите угольные электроды на электродные держатели, так, чтобы они были связаны с блоками гелей.

II), SAS-3 пользователи: Прикрепите угольные электроды на электродные держатели, так, чтобы они были связаны с блоками гелей.

III), SAS-M1 пользователей: Положите крышку на SAS-M1, так, чтобы обеспечить контакт электродов с соответствующих блоков буфера нажмите твердо обеспечить контакт.

8. Выполните электрофореза SDS мочи:

i) Пользователи SAS-1 Plus:

Анализ: 80 вольт, 30 минут, 15 С. Внимание: не накрывайте гель крышкой

ii) Пользователи SASM1:

Анализ: 80 вольт, 30 минут

ii) Пользователи SAS-3:

Шаг	Время (мин:сек)	Температура (°C)	Напряжение	Другое
Электрофорез	24:00	18	100	

9. После электрофореза, удалите электроды и очистите их.

ПРОТОКОЛ ОКРАШИВАНИЯ

10. Удалить оба блока геля с использованием средства для удаления блоков геля.

11. Зафиксируйте гель в фиксирующее-обесцвечивающем растворе на 5 минут

12. Высушите гель при температуре 50 – 60 С. Внимание: помутнение геля может наблюдаться, если сушить при температуре выше 60 ° С, это может привести к проблемам с обесцвечиванием.

13. Окуните сухой гель в окрашивающий раствор на 10 минут.

14. Обесцветьте гель 2 раза по 5 минут в фиксирующее-обесцвечивающем растворе или пока фон не станет ясным.

15. Промойте гель в очищенной воде и высушите.

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Клубочковая (гломерулярная) протеинурия.

Клубочковая протеинурия характеризуется наличием белков с молекулярной массой больше ~ 50kDa (например альбумина, трансферрина, IgG). На геле, альбумин является барьером между гломерулярными и тубулярными белками.

Канальцевая (тубулярная) протеинурия.



Тел. +44 (0)191 482 8440
Факс +44 (0)191 482 8442
Эл. почта info@helena-biosciences.com

www.helena-biosciences.com

Helena Biosciences Europe Queensway South,
Team Valley Trading Estate, Gateshead,
Tyne and Wear, NE11 0SD, United Kingdom

Канальцевая протеинурия характеризуется белками с молекулярной массой меньше ~ 50kDa (например α 1-микропротеин, ретинол связывающий белок, β 2-микроглобулин).

Протеинурия Бенс-Джонса.

Эти белки расположены в области микропротеинов, между альбумином и анодом. Из-за изменения их молекулярного веса, белки Бенс-Джонса могут иметь несколько различных позиций на геле. Наличие белка Бенс-Джонса, должно быть подтверждено методом Иммунофиксации.

Белки разделяются в зависимости от их молекулярного веса. От катода к аноду, в следующей последовательности:

α 2-Macro and IgM ~800 kDa

Haptoglobins ~250-350 kDa

IgA ~160-170 kDa

IgG ~150-160 kDa

Transferrin ~80 kDa

Albumin ~70 kDa

Dimers Kappa and Lambda ~50 kDa

α 1-Microproteins ~30-35 kDa

Bence Jones κ or λ ~18-25 kDa

Retinol Binding Protein ~20 kDa

Lysozyme ~15 kDa

β 2-Microglobulin ~12 kDa

Качественная оценка.

Гель SDS для мочи используются только для качественной оценки.

Гели предназначены для визуального осмотра на наличие или отсутствие полосы.

Гель может быть отсканирован при 595nm, положите гель агарозной стороной вниз.

Сделанный гель стабилен в течение неопределенного периода времени.

ОГРАНИЧЕНИЯ

Так как все процедуры электрофореза являются нелинейными, важно следовать инструкции по эксплуатации для обеспечения оптимального разрешения и воспроизводимости результатов. Невыполнение этих инструкций по эксплуатации может повлиять на полученные результаты.

Воспроизводимость

Один и тот же образец был проанализирован на 3 различных гелях и показал ту же схему полос на каждом из гелей.

Чувствительность

Чувствительность метода 50 нг на полосу (эквивалент 10 мг/л образца) определено как самая малая концентрация белка, которая была видна как отдельная полоса на выполненном геле.



Тел. +44 (0)191 482 8440
Факс +44 (0)191 482 8442
Эл. почта info@helena-biosciences.com

www.helena-biosciences.com

Helena Biosciences Europe Queensway South,
Team Valley Trading Estate, Gateshead,
Tyne and Wear, NE11 0SD, United Kingdom

Тест-система «Белки в моче-10» для прибора SAS-MX (SAS-MX Urine Analysis-10 Kit)

Тест-система "Белки в моче" для приборов SAS-M1, SAS-1, SAS-3 (SAS-M1, SAS-1, SAS-3 "Urine Analysis Kit").

НАЗНАЧЕНИЕ

Тест-система предназначена для скрининга неконцентрированных образцов мочи методом электрофореза в агарозном геле.

Белки мочи образуются в первую очередь на основе белков плазмы, которые фильтруются почками. Присутствие аномальных белков плазмы в моче имеет важнейшее значение при оценке почечной функции. Соответствующее исследование протеинурии должно включать количественную и качественную оценки типов и количества выделяемых белков.¹⁻⁵ Комбинация разделения белков мочи методом электрофореза в сочетании с идентификацией специфических типов белков методом иммунопреципитации позволяет дифференцировать несколько типов протеинурии – физиологическую, гломерулярную (селективную и неселективную), тубулярную и протеинурию, ассоциируемую с дисглобулинемией.¹⁻⁵ Набор SAS-1 Анализ мочи разделяет белки мочи в соответствии с зарядом в агарозном геле. Затем белки окрашивают для обеспечения визуализации и количественной и качественной интерпретации. Высококочувствительный краситель, используемый в наборе, позволяет тестировать большинство проб мочи без предварительного повышения концентрации, а использование внутреннего стандарта для белков мочи позволяет определить приближенное значение общего белка в моче, или индивидуальные концентрации полос белков методом денситометрии.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Все реагенты предназначены только для диагностического использования в условиях *in-vitro*. Не глотать и не пипетировать ртом ни один компонент набора. Надевать перчатки при работе со всеми компонентами набора. См. паспорт безопасности химического вещества, положения о рисках и обеспечении безопасности, а также информацию об утилизации.

СОСТАВ

1. SAS-1 Гель для анализа мочи

Содержит агарозу в Трис/барбитал буфере с тиомерсалом и азидом натрия в качестве консерванта. Гель упакован готовым к употреблению.

2. Кислотный фиолетовый краситель, концентрат

Содержит концентрированный кислотный фиолетовый краситель. Довести содержимое бутылки до 700 мл с использованием очищенной воды. Перемешать, оставить на ночь, отфильтровать перед использованием. Хранить в бутылки с плотно закрывающейся крышкой.

3. Обесцвечивающий раствор, концентрат



Тел. +44 (0)191 482 8440
Факс +44 (0)191 482 8442
Эл. почта info@helena-biosciences.com

www.helena-biosciences.com

Helena Biosciences Europe Queensway South,
Team Valley Trading Estate, Gateshead,
Tyne and Wear, NE11 0SD, United Kingdom

Содержит концентрированный обесцвечивающий раствор. Довести содержимое бутылки до 2-х литров с использованием очищенной воды. Хранить в бутылки с плотно закрывающейся крышкой.

4. Промывочный раствор

Содержит концентрированный промывочный раствор. Довести содержимое бутылки до 2-х литров с использованием солевого раствора.

5. Другие компоненты набора

Каждый набор содержит инструкцию по применению и достаточное количество промокающей бумаги В, С, D, X и гребенок-блоттеров для выполнения 10 гелей.

УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И СРОК ГОДНОСТИ

1. SAS-1 Гель для анализа мочи

Гель следует хранить при температуре 15-30°C, в этом случае гели сохраняют стабильность до окончания срока годности, указанного на упаковке. НЕ ОХЛАЖДАТЬ И НЕ ЗАМОРАЖИВАТЬ. Испорченный гель можно определить по следующим признакам: 1) кристаллический внешний вид, который указывает на то, что гель был заморожен; 2) ломкость и отслаивание, свидетельствующие о высыхании геля; 3) видимое загрязнение агарозы бактериальными или грибковыми источниками.

2. Кислотный фиолетовый краситель

Концентрат красителя следует хранить при температуре 15-30°C, в этом случае он сохраняет стабильность до окончания срока годности, указанного на ярлыке. Раствор красителя стабилен в течение 6 месяцев при температуре 15-30°C. Рекомендуется утилизировать использованный краситель незамедлительно в целях предотвращения снижения окрашивающей способности. Низкая эффективность окрашивания может указывать на порчу раствора красителя.

3. Обесцвечивающий раствор

Концентрат обесцвечивающего раствора следует хранить при температуре 15-30°C, в этом случае он сохраняет стабильность до окончания срока годности, указанного на ярлыке. Раствор стабилен в течение 6 месяцев при температуре 15-30°C.

4. Промывочный раствор

Концентрат промывочного раствора следует хранить при температуре 15-30°C, в этом случае он сохраняет стабильность до окончания срока годности, указанного на ярлыке. Раствор стабилен в течение 6 месяцев при температуре 15-30°C. Помутнение может свидетельствовать о порче.

НЕОБХОДИМЫЕ КОМПОНЕНТЫ, НЕ ВКЛЮЧЕННЫЕ В НАБОР

Номер по каталогу 210200 Ножи аппликатора для образцов (1 x 10)

Номер по каталогу 210300 Ножи аппликатора для образцов (5 x 10)

Номер по каталогу 210100 Одноразовые колпачки для образцов (100)

Номер по каталогу 5014 Пресс

Номер по каталогу 3100 REP Prep

Сушильная печь с принудительным движением воздуха, нагрев до 60-70°C



Тел. +44 (0)191 482 8440
 Факс +44 (0)191 482 8442
 Эл. почта info@helena-biosciences.com

www.helena-biosciences.com

Helena Biosciences Europe Queensway South,
 Team Valley Trading Estate, Gateshead,
 Tyne and Wear, NE11 0SD, United Kingdom

Фиксирующий раствор: Смешать 500 мл метанола с 500 мл очищенной воды. Хранить в бутылки с герметично закрывающейся крышкой.

Солевой раствор (0,85% NaCl)

Очищенная вода

Следующие позиции не требуются для стандартного анализа мочи, однако могут потребоваться для проведения дальнейших исследований:

Номер по каталогу 220100 Антисыворотка к человеческому общему белку в моче (2 мл)

Номер по каталогу 220200 Антисыворотка к человеческому микробелку в моче (2 мл)

Номер по каталогу 220300 Антисыворотка к человеческому макробелку в моче (2 мл)

Номер по каталогу 220400 Антисыворотка к человеческому GAM белку (2 мл)

Номер по каталогу 220700 Антисыворотка к человеческой свободной и связанной каппа легкой цепи GAM белку (2 мл)

Номер по каталогу 220800 Антисыворотка к человеческой свободной и связанной лямбда легкой цепи (2 мл)

Номер по каталогу 220500 Антисыворотка к человеческой свободной каппа легкой цепи (2 мл)

Номер по каталогу 220600 Антисыворотка к человеческой свободной лямбда легкой цепи (2 мл)

Номер по каталогу 220900 Антисыворотка пентавалентная к человеческому белку/альбумину в моче (2 мл)

Номер по каталогу 221000 Антисыворотка пентавалентная к человеческому белку в моче (2 мл)

Номер по каталогу 9249 Антисыворотка к IgD человека

Номер по каталогу 9250 Антисыворотка к IgE человека

ОТБОР И ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦОВ

Предпочтение следует отдать свежесобраным образцам мочи. Образцы мочи допускается хранить в охлажденном виде при 2-6°C до 72 часов или в течение 2-х недель при -20°C. Образцы мочи первично следует использовать без повышения концентрации или разбавления, кроме случаев, когда известно, что общий белок превышает 1000 мг/л. При сканировании выполненного геля методом денситометрии может быть введено обозначение общего белка мочи или концентрации индивидуальных белковых зон посредством введения внутреннего стандарта белков мочи (номер по каталогу 3032) в процедуру приготовления образца. Подробная инструкция по применению поставляется вместе с внутренним стандартом белков мочи.

ПОШАГОВАЯ ПРОЦЕДУРА

1. Пипетировать 35µл образца в соответствующую лунку поддона для образцов SAS-1 или в одноразовый колпачок для образцов.

i) Пользователи SAS-1 и SAS-1 Plus: Осторожно поместить поддон для образцов в ящик аппликатора. Установить поддон в соответствующее положение с применением нажатия.

ii) Пользователи SAS-3: Осторожно поместить поддон для образцов при помощи позиционирующих штырьков для поддона с образцами. Убедитесь, что поддон надежно установлен.

2. Извлечь гель из упаковки и:



Тел. +44 (0)191 482 8440
Факс +44 (0)191 482 8442
Эл. почта info@helena-biosciences.com

www.helena-biosciences.com

Helena Biosciences Europe Queensway South,
Team Valley Trading Estate, Gateshead,
Tyne and Wear, NE11 0SD, United Kingdom

- i) **Пользователи SAS-1:** Поместить гель в SAS-1 стороной с агарозой вверх, совместив положительные и отрицательные стороны с соответствующими стойками электродов.
- ii) **Пользователи SAS-1 Plus:** Нанести 400µл REP Rper на теплоотвод. Поместить гель на теплоотвод стороной с агарозой вверх, совместив положительные и отрицательные стороны с соответствующими стойками электродов, при этом следует исключить попадание пузырьков воздуха под гель.
- iii) **Пользователи SAS-3:** Поместить направляющую на штырьки и нанести 400µл REP Rper на центр камеры. Поместить гель в камеру стороной с агарозой вверх, с использованием направляющей, совместив положительные и отрицательные стороны с соответствующими стойками электродов, при этом следует исключить попадание пузырьков воздуха под гель.

3. Промокнуть поверхность геля промокательной бумагой C, утилизировать бумагу.

4. i) **Пользователи SAS-1:** Подсоединить электроды к верхней части стоек для электродов таким образом, чтобы они контактировали с блоками геля.

ii) **Пользователи SAS-1 Plus:** (см. выше). Поместить крышку на гель и электроды и плотно прижать на 5 секунд для обеспечения контакта.

iii) **Пользователи SAS-3:** Подсоединить электроды к верхней части стоек для электродов таким образом, чтобы они контактировали с блоками геля.

5. Установить в прибор 2 ножа аппликатора в сборе в соответствующую позицию (**Пользователи SAS-3:** слот A и 10).

6. Выполнить электрофорез для анализа мочи:

i) **Пользователи SAS-1:**

Анализ мочи: (с внутренним стандартом, номер по каталогу 3032) 100 вольт, 16 мин., 10 нанесений

Анализ мочи: (без внутреннего стандарта, номер по каталогу 3032) 100 вольт, 17 мин., 10 нанесений

Иммунофиксация: 80 вольт, 17 минут, 10 нанесений

ii) **Пользователи SAS-1 Plus:**

Анализ мочи: (с внутренним стандартом, номер по каталогу 3032) 100 вольт, 20 мин., 20°C, 10 нанесений

Анализ мочи: (без внутреннего стандарта, номер по каталогу 3032) 100 вольт, 21 мин., 20°C, 10 нанесений

Иммунофиксация: 80 вольт, 20 минут, 20°C, 10 нанесений

ii) **Пользователи SAS-3:**

Шаг	Время (мин:сек)	Температура (°C)	Напряжение	Другое
Загрузить образец	00:10	21		Скорость 1
Нанести образец	00:10	21		Скорость 1 ^{*1}
Повторить шаги «загрузить образец, нанести образец» для всех 10 нанесений				



Тел. +44 (0)191 482 8440
Факс +44 (0)191 482 8442
Эл. почта info@helena-biosciences.com
www.helena-biosciences.com

Helena Biosciences Europe Queensway South,
Team Valley Trading Estate, Gateshead,
Tyne and Wear, NE11 0SD, United Kingdom

Электрофорез	18:00	20	100	
Сушка	08:00	54 ^{*2}		
*1 Использование помещения 2				
*2 Если необходима иммунофиксация, не выполнять шаг сушки.				

ПРИМЕЧАНИЕ: Для анализа мочи следует извлечь блоки геля перед сушкой.

7. По завершении электрофореза (Пользователи **SAS-1 Plus**: снять крышку), снять электроды с поверхности геля. **ПРИМЕЧАНИЕ:** После сушки гель может быть окрашен с целью визуализации всех белков, присутствующих в образце (см. протокол окрашивания) или гель может быть инкубирован со специальной антисывороткой с целью визуализации отдельных белков, представляющих интерес (см. протокол иммунофиксации).

ПРОТОКОЛ ОКРАШИВАНИЯ

8. Пользователи **SAS-1** и **SAS-1 Plus**: Удалить оба блока геля с использованием средства для удаления блоков геля.

9. Установить гель в держатель камеры для окрашивания.

10. Выбрать программу для анализа мочи на устройстве для окрашивания и, следуя указаниям программы, фиксировать, окрашивать, обесцвечивать, промывать и сушить гель.

а) SAS-2 (Прибор для автоматического окрашивания)

Шаг	Раствор	Время (мин:сек)	Порт	Температура (°C)
Фиксация	Фиксирующий раствор	05:00	4	
Сушка	---	15:00		65
Окрашивание	Кислотный фиолетовый краситель	10:00	5	
Промывка	Очищенная вода	00:10	1	
Промывка	Очищенная вода	00:10	1	
Обесцвечивание	Обесцвечивающий раствор	02:00	2	
Обесцвечивание	Обесцвечивающий раствор	02:00	2	
Промывка	Очищенная вода	01:00	1	
Сушка	---	05:00		65

б) SAS-4 (Прибор для автоматического окрашивания)

Шаг	Время (мин:сек)	Температура (°C)	Другое
Окрашивание	04:00		Рециркуляция ВКЛ
Обесцвечивание	02:00		Рециркуляция ВКЛ
Обесцвечивание	02:00		Рециркуляция ВКЛ
Сушка	12:00	64	

в) Вручную



Тел. +44 (0)191 482 8440
 Факс +44 (0)191 482 8442
 Эл. почта info@helena-biosciences.com
www.helena-biosciences.com

Helena Biosciences Europe Queensway South,
 Team Valley Trading Estate, Gateshead,
 Tyne and Wear, NE11 0SD, United Kingdom

Следовать последовательности действий, указанной для прибора для автоматического окрашивания SAS-2, используя ковету для шагов фиксации, окрашивания, обесцвечивания и промывки, и сушильную печь с рециркуляцией воздуха и нагревом до 60-70°C для шагов сушки.

11. По окончании цикла окрашивания извлечь гель из камеры для окрашивания. Теперь гель готов для исследования.

ПРОТОКОЛ ИММУНОФИКСАЦИИ

8. Ввести в прибор следующие параметры:

i) Пользователи SAS-1 Plus:

Инкубация, шаг 1: 10 минут, 37°C (инкубировать)

Инкубация, шаг 2: 8 минут, 40°C (промокательная бумага D)

ii) Пользователи SAS-3:

Шаг	Время (мин:сек)	Температура (°C)
Нанести антисыворотку	10:00	21
Установить гребенки	02:00	21
Промокательная бумага D	05:00	40
Сушка	08:00	54

9. (Пользователи SAS-3: снять направляющую). Разместить шаблон для нанесения антисыворотки на поверхности геля. ПРИМЕЧАНИЕ: каналы антисыворотки следует выровнять по центру и наложить на квадрат, отмеченный на геле, на который наносят образцы.

10. Нанести 2 капли (или 50µл) соответствующей антисыворотки/фиксирующего раствора в отверстие иммуноглобиновых дорожек. Следует убедиться, что антисыворотка полностью заполнила каналы.

11. Пользователи SAS-1: Инкубировать гель: 15-30°C, 10 минут.

Пользователи SAS-1 Plus: Инкубировать гель.

12. По завершении инкубации поместить гребенку-блоттер в отверстия шаблона антисыворотки. Оставить на 2 минуты для впитывания излишков антисыворотки, затем удалить гребенку и шаблон с поверхности геля.

13. i) Пользователи SAS-1: Удалить блоки геля с применением средства для удаления блоков геля и промыть гель промывочным раствором в течение 5 минут.

ii) Пользователи SAS-1 Plus и SAS-3: Поместить промокательную бумагу D (гладкой стороной вниз) на гелевую поверхность, оставить на 10 минут и удалить.

14. i) Пользователи SAS-1: Поместить гель на промокательную бумагу D стороной с агарозой вверх и положить промокательную бумагу B (смоченную промывочным раствором) на гелевую поверхность, затем положить две промокательные бумаги X. Оставить гель под прессом на 10 минут.



Тел. +44 (0)191 482 8440
Факс +44 (0)191 482 8442
Эл. почта info@helena-biosciences.com
www.helena-biosciences.com

Helena Biosciences Europe Queensway South,
Team Valley Trading Estate, Gateshead,
Tyne and Wear, NE11 0SD, United Kingdom

ii) Пользователи SAS-1 Plus и SAS-3: Поместить промокательную бумагу D (гладкой стороной вниз) на гелевую поверхность и снова положить шаблон антисыворотки, чтобы обеспечить горизонтальное положение промокательной бумаги. Выполнить абсорбцию геля.

15. i) Пользователи SAS-1: Удалить всю промокательную бумагу и поместить гель в промывочный раствор на 4 минуты при легком помешивании.

ii) Пользователи SAS-1 Plus и SAS-3: Удалить промокательную бумагу D и высушить гель.

16. i) Пользователи SAS-1: Извлечь гель из промывочного раствора и поместить на промокательную бумагу D стороной с агарозой вверх. Положить промокательную бумагу B (смоченную промывочным раствором) на гелевую поверхность, затем положить промокательную бумагу D. Оставить гель под прессом на 3 минуты.

ii) Пользователи SAS-1 Plus и SAS-3: Удалить блоки геля с использованием средства для удаления блоков геля. Перейти к шагу 18.

17. i) Пользователи SAS-1: Удалить всю промокательную бумагу.

18. Установить гель в держатель камеры для окрашивания.

ПРИМЕЧАНИЕ: Сразу после использования необходимо очистить шаблон антисыворотки с применением мягкого биоцидного моющего средства. Если возможно, потрите дно шаблона зубной щеткой или маленькой щеткой для пробирок. Не допускайте высыхания антисыворотки на шаблоне. Отложения антисыворотки на поверхности шаблона приведут к образованию пузырьков воздуха во время нанесения антисыворотки. Необходимо тщательно высушить шаблон антисыворотки. Вода, оставшаяся в отверстиях, будет препятствовать нанесению антисыворотки в следующий раз. Хранить шаблон следует перевернутым вверх дном в целях улучшения циркуляции воздуха, и, тем самым, способствуя сушке аппликатора.

19. Выбрать программу теста Urine IFE на приборе для окрашивания и, следуя указаниям программы, выполнить промывку, окрашивание, обесцвечивание и сушку геля.

а) SAS-2 (Прибор для автоматического окрашивания)

Шаг	Раствор	Время (мин:сек)	Порт	Температура (°C)
Сушка	---	10:00		55
Промывка	Промывочный раствор	07:00	4	
Окрашивание	Кислотный синий краситель	03:00	5	
Обесцвечивание	Обесцвечивающий раствор	02:00	2	
Сушка	---	05:00		65
Промывка	Промывочный раствор	03:00	4	
Промывка	Промывочный	03:00	4	



Тел. +44 (0)191 482 8440
Факс +44 (0)191 482 8442
Эл. почта info@helena-biosciences.com
www.helena-biosciences.com

Helena Biosciences Europe Queensway South,
Team Valley Trading Estate, Gateshead,
Tyne and Wear, NE11 0SD, United Kingdom

	раствор		
Сушка	---	05:00	65

б) SAS-4 (Прибор для автоматического окрашивания)

Шаг	Время (мин:сек)	Температура (°C)	Другое
Промывка	00:03		Рециркуляция ВКЛ
Промывка	10:00		Рециркуляция ВКЛ
Окрашивание	04:00		Рециркуляция ВКЛ
Обесцвечивание	02:00		Рециркуляция ВКЛ
Обесцвечивание	02:00		Рециркуляция ВКЛ
Сушка	12:00	63	

в) Вручную

Следовать последовательности действий, указанной для прибора для автоматического окрашивания SAS-2, используя кювету для шагов фиксации, окрашивания, обесцвечивания и промывки, и сушильную печь с рециркуляцией воздуха и нагревом до 60-70°C для этапов сушки.

20. По окончании цикла окрашивания извлечь гель из камеры для окрашивания. Теперь гель готов для исследования.

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

При электрофорезе белков большая часть моноклональных белков мигрирует в катодный гамма-регион шаблона белков, однако вследствие аномальности их природы они могут мигрировать в любое место в рамках зоны глобулинов. В таком случае аномальный белок следует идентифицировать с использованием иммунофиксации.

При наличии низких концентраций аномального белка аномальная полоса может появиться в рамках нормального поликлонального иммуноглобулина. Полосу также можно будет увидеть на поликлональном фоне, где также присутствует значительное количество поликлонального иммуноглобулина.

Публикация "Immunofixation for the Identification of Monoclonal Gammopathies" доступна в Helena BioSciences по запросу.

Визуальная интерпретация полос, присутствующих на геле, методом иммунофиксации:

Тип протеинурии	Полосы, наблюдаемые на геле	Присутствующие белки
Нормальная моча	Небольшая полоса альбумина	альбумин
Гломерулярная	Альбумин, альфа-1, бета, гамма	альбумин, альфа-1, антитрипсин, трансферрин, гаммаглобулины
Тубулярная	альфа-1, альфа-2, бета	ретинол-связывающий белок, бета2-микроглобулин, альфа2-



Тел. +44 (0)191 482 8440
Факс +44 (0)191 482 8442
Эл. почта info@helena-biosciences.com
www.helena-biosciences.com

Helena Biosciences Europe Queensway South,
Team Valley Trading Estate, Gateshead,
Tyne and Wear, NE11 0SD, United Kingdom

		микроглоблин
Обильное выделение	гамма или различные	иммуноглобулины, свободные легкие цепи

ОГРАНИЧЕНИЯ

1. Излишек антигена

Излишек антигена происходит в случае отсутствия небольшого излишка антител или равенства антигена/антител на стадии осаждения. Излишек антигена при иммунофиксации обычно обусловлен избытком иммуноглобулина в образце пациента. Излишек антигена характеризуется прозоной (неокрашенными участками в центре иммунофиксированной полосы белка, с окраской по краям). В таком случае следует использовать более высокую степень разведения образца с целью оптимизации концентрации иммуноглобулина.

2. Полоса в катодном конце гамма-участка показывает отсутствие реакции с антисывороткой IFE.

C-реактивный белок (CRP) может быть обнаружен у пациентов с острым воспалительным процессом.^{6,7} CRP появляется в виде широкой полосы в катодном конце шаблона белков сыворотки. Повышенные уровни альфа-1 – антитрипсин и гаптоглобина являются вспомогательными свидетельствами присутствия CRP. У пациентов с полосой CRP, возможно, будет выявлен повышенный уровень при тестировании на CPR.

3. Отсутствие реакции с каппа и лямбда антисывороткой.

Иногда образец может вступать в реакцию с тяжелой цепью антисыворотки, при этом не наблюдается реакции с легкой цепью. В такой ситуации необходимо исключить следующее: а) заболевание, связанное с тяжелыми цепями, б) очень большие концентрации легких цепей, что приводит к избытку антигена, в) низкие концентрации легких цепей, г) атипичная молекула легких цепей, которая не вступает в реакцию с антисывороткой, д) легкие цепи со «скрытыми» детерминантами легких цепей (что иногда наблюдается с IgA и IgD). Для получения определенных результатов тестирование может включать а) более высокую или низкую степень разбавления образца с целью оптимизации равенства антител/антигенов, б) использование антисыворотки более чем от одного производителя с целью облегчения идентификации атипичных иммуноглобулинов, и в) обработка образца b-2-меркаптоэтанолом с целью «обнаружения» легких цепей.

РАБОЧИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

а) Воспроизводимость

Полоса	В рамках цикла (n=24)		Между циклами (n=4)	
	Среднее (%)	Козф. вар. (%)	Среднее (%)	Козф. вар. (%)
Полоса 1	54,9	2,7	53,6	3,0
Полоса 2	5,0	8,3	5,2	9,5
Полоса 3	8,9	9,1	9,3	9,2
Полоса 4	9,7	7,3	9,8	7,5
Полоса 5	6,8	8,9	7,1	10,4
Полоса 6	14,6	6,8	12,6	6,9

б) Чувствительность



Тел. +44 (0)191 482 8440
Факс +44 (0)191 482 8442
Эл. почта info@helena-biosciences.com
www.helena-biosciences.com

Helena Biosciences Europe Queensway South,
Team Valley Trading Estate, Gateshead,
Tyne and Wear, NE11 0SD, United Kingdom

50нг на полосу (эквивалент 10мг/л образца) определено как самая малая концентрация белка, которая была видна как отдельная полоса на выполненном геле.

б) Линейность

Линейность метода – это функция спецификации денситометра, а также эффективность геля. Рекомендуется, чтобы каждый пользователь определил линейность метода, основываясь на используемом в лаборатории денситометре.

БИБЛИОГРАФИЯ

1. Fauchier, P. and Catalan, F. 'Interpretive Guide to Clinical Electrophoresis' Alfred Fournier Institute, Paris, France, 1988.
2. Killingsworth, L.M., Cooney, S.K. and Tyllia, M.M. 'Finding Clues to Disease in Urine' Diagnostic Medicine, 1980 ; May/June : 69-75.
3. Umbreit, A. and Wiedemann, G. 'Determination of Urinary Protein Fractions. A Comparison With Different Electrophoretic Methods and Quantitatively Determined Protein Concentrations' Clin. Chim. Acta., 2000; 297 : 163-172.
4. Wiedemann, G. and Umbreit, A. 'Determination of Urinary Protein Fractions by Different Electrophoretic Methods', Clin. Lab.; 1999, 45 : 257-262.
5. Wong, W.K., Wieringa, G.E., Stec, Z., Russell, J., Cooke, S., Keevil, B.G. and Lockhart, S. 'A Comparison of Three Procedures for the Detection of Bence-Jones Proteinuria' Ann. Clin. Biochem., 1997, 34 : 371-374.
6. Alper, C.A and Johnson, A.M., 'Immunofixation Electrophoresis: A Technique for the Study of Protein Polymorphism', Vox. Sang., 1969; 17 : 445-452.
7. Alper, C.A., 'Genetic Polymorphism of Complement Components as a Probe of Structure and Function', Progress in Immunology. First International Congress of Immunology. 1971 : 609-624, Academic Press, New York.
8. Microprotein - PRT™ (Procedure No. 611) Sigma Diagnostics, September 1995.



Тел. +44 (0)191 482 8440
Факс +44 (0)191 482 8442
Эл. почта info@helena-biosciences.com

www.helena-biosciences.com

Helena Biosciences Europe Queensway South,
Team Valley Trading Estate, Gateshead,
Tyne and Wear, NE11 0SD, United Kingdom

Тест-система "Белки сыворотки (бета-сплит)-10" для прибора SAS-MX (SAS-MX "SP-10 SB"),

Тест-система "Белки сыворотки (бета-сплит)-60" для прибора SAS-3 (SAS-3 "SP-60 SB"),

Тест-система "Белки сыворотки (бета-сплит)-100" для прибора SAS-3 (SAS-3 "SP-100 SB")

НАЗНАЧЕНИЕ

Тест-система предназначена для разделения и количественного определения белков сыворотки методом электрофореза в агарозном геле.

Сыворотка содержит более 100 отдельных белков, каждый со специальным набором функций, и концентрация которых подлежит специфическим вариациям при различных патологических состояниях.¹

Со времени изобретения Тиселиусом (Tiselius)² электрофореза с подвижной границей и последующего использования зонального электрофореза белки сыворотки были разделены на фракции на основе их заряда при определенном pH. Набор SAS-1 Белки сыворотки предназначен для разделения белков сыворотки на 5 основных классов (альбумин, альфа-1 глобулин, альфа-2 глобулин, бета-глобулин, и гамма-глобулин) в соответствии с зарядом в агарозном геле. Затем белки окрашивают с целью визуализации и количественной интерпретации. Каждая из классических зон электрофореза, за исключением альбумина, обычно содержит 2 или более компонентов. Данные о пропорциональном отношении этих фракций зарекомендовали себя как хорошее вспомогательное средство при диагностике и прогнозировании определенных патологических состояний.³⁻⁵

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Все реагенты предназначены только для диагностического использования в условиях *in-vitro*. Не глотать и не пипетировать ртом ни один компонент набора. Надевать перчатки при работе со всеми компонентами набора. См. паспорт безопасности химического вещества, положения о рисках и обеспечении безопасности, а также информацию об утилизации.

СОСТАВ

1. Гели белки сыворотки бета сплит SAS-1

Содержит агарозу в Трис/барбитал буфере с тиомерсалом и азидом натрия в качестве консерванта. Гель упакован готовым к употреблению.

2. Кислотный синий краситель, концентрат

Содержит концентрированный кислотный синий краситель. Довести содержимое бутылки до 700 мл с использованием очищенной воды. Перемешать, оставить на ночь, отфильтровать перед использованием. Хранить в бутылки с плотно закрывающейся крышкой.

3. Обесцвечивающий раствор, концентрат

Содержит концентрированный обесцвечивающий раствор. Довести содержимое бутылки до 2-х литров с использованием очищенной воды. Хранить в бутылки с плотно закрывающейся крышкой.



Тел. +44 (0)191 482 8440
Факс +44 (0)191 482 8442
Эл. почта info@helena-biosciences.com

www.helena-biosciences.com

Helena Biosciences Europe Queensway South,
Team Valley Trading Estate, Gateshead,
Tyne and Wear, NE11 0SD, United Kingdom

4. Другие компоненты набора

Каждый набор содержит инструкцию по применению и достаточное количество промокатальной бумаги C для выполнения 10 гелей.

УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И СРОК ГОДНОСТИ

1. SAS-I Гель SB для белков сыворотки.

Гель следует хранить при температуре 15-30°C, в этом случае гели сохраняют стабильность до окончания срока годности, указанного на упаковке. НЕ ОХЛАЖДАТЬ И НЕ ЗАМОРАЖИВАТЬ. Испорченный гель можно определить по следующим признакам: 1) кристаллический внешний вид, который указывает на то, что гель был заморожен; 2) ломкость и отслаивание, свидетельствующие о высыхании геля; 3) видимое загрязнение агарозы бактериальными или грибковыми источниками.

2. Кислотный синий краситель

Концентрат красителя следует хранить при температуре 15-30°C, в этом случае он сохраняет стабильность до окончания срока годности, указанного на ярлыке. Раствор красителя стабилен в течение 6 месяцев при температуре 15-30°C. Рекомендуется незамедлительно утилизировать использованный краситель в целях предотвращения снижения окрашивающей способности. Низкая эффективность окрашивания может указывать на порчу раствора красителя.

3. Обесцвечивающий раствор

Концентрат обесцвечивающего раствора следует хранить при температуре 15-30°C, в этом случае он сохраняет стабильность до окончания срока годности, указанного на ярлыке. Раствор стабилен в течение 6 месяцев при температуре 15-30°C.

НЕОБХОДИМЫЕ КОМПОНЕНТЫ, НЕ ВКЛЮЧЕННЫЕ В НАБОР

Номер по каталогу 210200 Ножи аппликатора для образцов (1 x 10)

Номер по каталогу 210300 Ножи аппликатора для образцов (5 x 10)

Номер по каталогу 210100 Одноразовые колпачки для образцов (100)

Номер по каталогу 3100 REP Prep

Сушильная печь с принудительным движением воздуха, нагрев до 60-70°C

Фиксирующий раствор: смешать 500 мл метанола и 500 мл очищенной воды. Добавить 100 мл ледяной уксусной кислоты. Хранить в бутылки с плотно закрывающейся крышкой.

Очищенная вода

ОТБОР И ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦОВ

Предпочтение следует отдать свежесобранному образцам сыворотки. Образцы сыворотки допускается хранить при температуре 15-30°C до 4-х дней, при 2-6°C до 2-х недель или 6 месяцев при -20°C.⁶ Также допускается использовать мочу и спинномозговую жидкость, выполнив соответствующие действия по изменению концентрации (50-100X). Использование плазмы приводит к появлению фибриногеновой полосы между бета- и гамма-фракциями.

Интерферирующие факторы: 1) Гемолиз может стать причиной ложно повышенных уровней фракций альфа 2 и бета. 2) Неточные результаты могут быть получены по образцам, оставленным на открытом воздухе, по причине испарения.



Тел. +44 (0)191 482 8440
Факс +44 (0)191 482 8442
Эл. почта info@helena-biosciences.com

www.helena-biosciences.com

Helena Biosciences Europe Queensway South,
Team Valley Trading Estate, Gateshead,
Tyne and Wear, NE11 0SD, United Kingdom

ПОШАГОВАЯ ПРОЦЕДУРА

1. Пипетировать 35μл образца в соответствующую лунку поддона для образцов SAS-1 или в одноразовый колпачок для образцов.

i) Пользователи SAS-1 и SAS-1 Plus: Осторожно поместить поддон для образцов в ящик аппликатора. Установить поддон в соответствующее положение с применением нажатия.

ii) Пользователи SAS-3: Осторожно поместить поддон для образцов при помощи позиционирующих штырьков для поддона с образцами. Убедитесь, что поддон надежно установлен.

2. Извлечь гель из упаковки, удалить верхний слой и:

i) Пользователи SAS-1: поместить гель в SAS-1 стороной с агарозой вверх, соединив положительные и отрицательные стороны с соответствующими стойками электродов.

ii) Пользователи SAS-1 Plus: нанести 400μл REP Prep на теплоотвод. Поместить гель на теплоотвод стороной с агарозой вверх, совместив положительные и отрицательные стороны с соответствующими стойками электродов, при этом следует исключить попадание пузырьков воздуха под гель.

iii) Пользователи SAS-3: поместить направляющую на штырьки и нанести 400μл REP Prep на центр камеры. Поместить гель в камеру стороной с агарозой вверх, с использованием направляющей, совместив положительные и отрицательные стороны с соответствующими стойками электродов, при этом следует исключить попадание пузырьков воздуха под гель.

3. Промокнуть поверхность геля промокательной бумагой C, утилизировать бумагу.

4. i) Пользователи SAS-1: подсоединить электроды к верхней части стоек электродов таким образом, чтобы они контактировали с блоками геля.

ii) Пользователи SAS-1 Plus: (см. выше). Поместить крышку на гель и электроды и плотно прижать на 5 секунд для обеспечения контакта.

iii) Пользователи SAS-3: подсоединить электроды к стойкам таким образом, чтобы они контактировали с блоками геля.

5. Установить в прибор 2 ножа аппликатора в сборе в соответствующую позицию (Пользователи SAS-3: слот A и 10).

6. Выполнить электрофорез белков сыворотки:

i) Пользователи SAS-1: 80 вольт, 22 минуты, 1 нанесение

ii) Пользователи SAS-1 Plus: Электрофорез : 100 Вольт, 22 минут, 20°C, 1 нанесение.

iii) Пользователи SAS-3:

Шаг	Время (мин:сек)	Температура (°C)	Напряжение	Другое
Загрузка образца	00:30	21		Скорость 1
Нанесение пробы	00:30	21		Скорость 1*
Электрофорез	23:00	20	100	
Сушка	08:00	54		

*Использование помещения 2



Тел. +44 (0)191 482 8440
Факс +44 (0)191 482 8442
Эл. почта info@helena-biosciences.com

www.helena-biosciences.com

Helena Biosciences Europe Queensway South,
Team Valley Trading Estate, Gateshead,
Tyne and Wear, NE11 0SD, United Kingdom

ПРИМЕЧАНИЕ: Перед сушкой следует извлечь блоки геля.

7. По завершении электрофореза:

i) Пользователи SAS-1 Plus: снять крышку.

ii) Пользователи SAS-1 и SAS-3: снять электроды и удалить оба блока геля с использованием средства для удаления блоков геля.

8. Установить гель на держатель камеры для окрашивания.

9. Выбрать программу теста Serum Protein (Белки сыворотки) для устройства для окрашивания и, следуя указаниям прибора, фиксировать, окрашивать, обесцвечивать и сушить гель.

а) SAS-2 (Прибор для автоматического окрашивания)

Шаг	Раствор	Время (мин:сек)	Порт	Температура (°C)
Окрашивание	Кислотный синий краситель	10:00	6	
Промывка	Очищенная вода	01:00	1	
Сушка	---	15:00		65
Обесцвечивание	Обесцвечивающий раствор	03:00	2	
Обесцвечивание	Обесцвечивающий раствор	03:00	2	
Промывка	Очищенная вода	01:00	1	
Сушка	---	10:00		65

б) SAS-4 (Прибор для автоматического окрашивания)

Шаг	Время (мин:сек)	Температура (°C)	Другое
Окрашивание	04:00		Рециркуляция ВКЛ
Обесцвечивание	02:00		Рециркуляция ВКЛ
Обесцвечивание	02:00		Рециркуляция ВКЛ
Сушка	12:00	63	

с) Вручную

Следовать последовательности действий, указанной для прибора для автоматического окрашивания SAS-2, используя кювету для шагов фиксации, окрашивания, обесцвечивания и промывки, и сушильную печь с рециркуляцией воздуха и нагревом до 60-70°C для этапов сушки.

10. По окончании цикла окрашивания извлечь гель из камеры для окрашивания. Теперь гель готов для исследования.

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Контроли Kemtrol Serum Controls (номера по каталогу 7024 и 7025) могут быть использованы для верификации всех этапов процедуры и должны быть использованы при выполнении каждого цикла по планшету. Соответствующие справочные значения см. прилагаемый упаковочный вкладыш.



Тел. +44 (0)191 482 8440
Факс +44 (0)191 482 8442
Эл. почта info@helena-biosciences.com

www.helena-biosciences.com

Helena Biosciences Europe Queensway South,
Team Valley Trading Estate, Gateshead,
Tyne and Wear, NE11 0SD, United Kingdom

86
helena



Тел. +44 (0)191 482 8440
Факс +44 (0)191 482 8442
Эл. почта info@helena-biosciences.com
www.helena-biosciences.com

Helena Biosciences Europe Queensway South,
Team Valley Trading Estate, Gateshead,
Tyne and Wear, NE11 0SD, United Kingdom

5

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Рекомендуется выполнять оценку гелей относительно нормальных значений, полученных для данного метода в каждой отдельной лаборатории.

Подробное рассмотрение оценки белков сыворотки см. Ритцманн С.Е. (Ritzmann S.E.), 1982.⁵ Исследования показывают, что значения одинаковы как для мужчин, так и для небеременных женщин. Некоторые различия наблюдают у беременных женщин и у женщин, принимающих оральные контрацептивы.

На нормальные значения оказывает некоторое влияние возраст. В пуповинной крови отмечается пониженное значение общего белка, альбумина, альфа 2 и бета фракций; немного повышенный уровень альфа 1 и нормальный или повышенный уровень гамма фракции (в основном материнского происхождения). Количество гамма-глобулинов быстро снижается до 3-х месячного возраста, и к этому же возрасту другие фракции достигают уровня взрослого человека. Уровни гамма-глобулинов соответствуют показателям взрослого человека не ранее 10-16 летнего возраста. После 40 лет снижается уровень альбумина и повышается уровень бета глобулина.

1. Качественная оценка:

Гели можно оценить визуально на наличие или отсутствие полос, представляющих интерес.

2. Количественная оценка:

Сканировать гель, стороной с гелем вниз, при 595 нм.

В любом случае повышение или снижение уровня отдельных компонентов сыворотки или обнаружение необычных компонентов сыворотки требуют дальнейшего исследования. Выполненный гель для белков сыворотки SAS-1 стабилен в течение неопределенного периода времени.

ОГРАНИЧЕНИЯ

Так как все процедуры электрофореза не являются линейными, важно в точности следовать данной инструкции по применению с целью достижения оптимального разрешения и воспроизводимых результатов. При несоблюдении настоящей инструкции по применению полученные результаты могут быть ошибочными.

СПРАВОЧНЫЕ ЗНАЧЕНИЯ

Следующие нормальные значения были получены с использованием 20 нормальных проб доноров мужского и женского пола в возрастных рамках 20-59 лет (данные представлены только в справочных целях):

Фракция белков	Среднее (%)	±2 станд. откл. диапазон
Альбумин	59,3	53,1-65,5
Альфа 1	3,5	2,3-4,6
Альфа 2	8,7	6,5-10,9
Бета 1	8,6	6,5-10,7
Бета 2	10,7	3,7-6,0
Гамма	15,0	11,6-18,6



Тел. +44 (0)191 482 8440
Факс +44 (0)191 482 8442
Эл. почта info@helena-biosciences.com
www.helena-biosciences.com

Helena Biosciences Europe Queensway South,
Team Valley Trading Estate, Gateshead,
Tyne and Wear, NE11 0SD, United Kingdom

РАБОЧИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Воспроизводимость

	Гель (n=24)		Между гелями (n=96)	
	Средняя (%)	Козф. вар. (%)	Средняя (%)	Козф. вар. (%)
Альбумин	59,2	3,7	59,7	3,9
Альфа 1	3,9	9,7	4,0	12,7
Альфа 2	9,9	6,0	9,1	6,1
Бета 1	8,3	4,4	9,0	6,1
Бета 2	5,2	7,8	4,8	9,0
Гамма	13,6	6,8	13,2	8,2

Чувствительность

Данный метод чувствителен к 0,25 г/л на полоску, что было определено как самая малая концентрация белка, которая была явно видна как отдельная полоса на выполненном геле.

Линейность

Линейность метода – это функция спецификации денситометра, а также эффективность геля. Рекомендуется, чтобы каждый пользователь определил линейность метода, основываясь на используемом в лаборатории денситометре.

БИБЛИОГРАФИЯ

1. Alper, C.A. 'Plasma Protein Measurements as a Diagnostic Aid', *N. Eng. J. Med.*, 1974; 291 : 287-290.
2. Tiselius, A. 'A New Apparatus for Electrophoretic Analysis of Colloidal Mixtures', *Trans. Faraday Soc.*, 1937; 33 : 524.
3. Ritzmann, S.E. and Daniels, J.C. 'Diagnostic Proteinology: Separation and Characterization of Proteins, Qualitative and Quantitative Assays' in *Laboratory Medicine*, Harper and Row, Inc., Hagerstown, 1979.
4. Tietz, N.W. (Ed.), *Textbook of Clinical Chemistry*, W.B. Saunders Co., Philadelphia, pages 579-582, 1986.
5. Ritzmann, S.E. (Ed.), *Protein Abnormalities Volume 1 : Physiology of Immunoglobulins - Diagnostic and Clinical Aspects*, Allen R. Liss, Inc., New York, 1982.
6. Tietz, N.W. (Ed.), *Textbook*



Тел. +44 (0)191 482 8440
Факс +44 (0)191 482 8442
Эл. почта info@helena-biosciences.com
www.helena-biosciences.com

Helena Biosciences Europe Queensway South,
Team Valley Trading Estate, Gateshead,
Tyne and Wear, NE11 0SD, United Kingdom

**Тест-система "Белки сыворотки, высокое разрешение-12" для прибора SAS-1 (SAS-1 Hi-Res 12 Kit),
Тест-система "Белки сыворотки, высокое разрешение" для приборов SAS-MX, SAS-3 (SAS-MX, SAS-3 Hi-Res Kit)**

Назначение

Тест-система Белки сыворотки высокое разрешение предназначена для определения в сыворотке или плазме крови белков с помощью агарозного гель-электрофореза.

Сыворотка содержит более 100 отдельных белков, каждый из которых имеет определенный набор функций, концентрация отдельных белков может значительно меняться при различных патологических состояниях.

После разработки метода электрофореза в свободной жидкости по Tiselius² и последующего использования зонального электрофореза, белки сыворотки стало возможно разделять на фракции на основе их заряда при определенном значении pH.

Набор для проведения высокого разрешения белков в сыворотке, в отличие от классической схемы на 5 фракций, дает возможность определить 10-15 различных фракций, тем самым увеличивая диагностическую значимость белковых фракций³⁻⁵. Около 15 белков сыворотки крови были изучены, поскольку они могут быть легко измерены⁶⁻⁹.

Тест-система Белки сыворотки высокое разрешение разделяет белки в сыворотке или плазме в зависимости от их заряда в агарозном геле. Белковые фракции, фиксированные и окрашенные пригодны для визуализации и качественной интерпретации.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Все реагенты предназначены только для диагностического использования в условиях *in vitro*. Не глотать и не пипетировать ртом ни один компонент набора. Надевать перчатки при работе со всеми компонентами набора. См. паспорт безопасности химического вещества, положения о рисках и обеспечении безопасности, а также информацию об утилизации.

СОСТАВ

1. ГЕЛЬ.

Содержит агарозу в барбиталовом буфере с тиомерсалом и азидом натрия в качестве консерванта. Гель упакован и готов к использованию.

2. Краситель (концентрат).

Содержит концентрат красителя для высокого разрешения. Разведите содержимое бутылки в 700 ml с окрашивающим раствором и хорошо перемешайте. Храните в плотно закрытой бутылке.

3. Другие компоненты набора.

Каждый набор содержит инструкцию по применению и достаточное количество блоттера C для выполнения 10 гелей.

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

1. SAS-1 Plus Белки сыворотки высокое разрешение, ГЕЛЬ

Гель следует хранить при температуре 15-30°C, в этом случае гели сохраняют стабильность до окончания срока годности, указанного на упаковке. НЕ ОХЛАЖДАТЬ И НЕ ЗАМОРАЖИВАТЬ. Испорченный гель можно определить по следующим признакам: 1) кристаллический внешний вид, который указывает на то, что гель был заморожен; 2)



Тел. +44 (0)191 482 8440
Факс +44 (0)191 482 8442
Эл. почта info@helena-biosciences.com

www.helena-biosciences.com

Helena Biosciences Europe Queensway South,
Team Valley Trading Estate, Gateshead,
Tyne and Wear, NE11 0SD, United Kingdom

ломкость и отслаивание, свидетельствующие о высыхании геля или 3) видимое загрязнение агарозы бактериальными или грибковыми источниками.

2. Белки сыворотки высокое разрешение, Краситель

Концентрат красителя следует хранить при температуре 15-30°C, в этом случае он сохраняет стабильность до окончания срока годности, указанного на этикетке. Раствор красителя стабилен в течение 6 месяцев при температуре 15-30°C. Низкая эффективность окрашивания может указывать на порчу раствора красителя.

НЕОБХОДИМЫЕ КОМПОНЕНТЫ, НЕ ВКЛЮЧЕННЫЕ В НАБОР

Cat. No. 210200 Аппликаторы для нанесения образцов (1 x 10)

Cat. No. 210300 Аппликаторы для нанесения образцов (5 x 10)

Cat. No. 210100 Ячейки для образцов (100)

Cat. No. 5141 Маркер для гелей

Cat. No. 3100 Теплоотводящая жидкость

Обесцвечивающий раствор: Смешайте 500ml метанола и 500ml очищенной воды. Добавьте 100мл ЛУК (ледяной уксусной кислоты). Храните в плотно закрытой бутылке.

Вода очищенная

Сушильная печь с принудительным движением воздуха, нагрев до 60-70°C.

ОТБОР И ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦОВ

Предпочтение следует отдать свежесобраным образцам сыворотки или плазмы. Образцы сыворотки допускается хранить при температуре 2-6°C до 2-х дней. При использовании плазмы в результатах будет фракция фибриногена между бета и гамма зонами. При использовании старых образцов будут получены искаженные результаты, фракция С3 будет мигрировать в зону трансферрина.

Образцы мочи и Цереброспинальной жидкости могут быть использованы, как образцы в соответствии со следующей таблицей:

Total Protein (g/L)	Concentration Factor
<0.5	100 x
0.5 - 1.0	50 x
1.0 - 3.0	25 x
3.0 - 6.0	10 x
6.0 - 10.0	5 x

После концентрации, мочи и ликвора образцы должны быть нанесены непосредственно на гель.

ПОШАГОВАЯ ПРОЦЕДУРА

1. Пипетировать 35µl образца в соответствующую ячейку штатива для образцов SAS-1 или в одноразовую чашечку для образцов.

i) Пользователи SAS-1 и SAS-1 Plus: Осторожно поместите штатив для образцов в соответствующий адаптер. Установить адаптер со штативом в правильном положении.

ii) Пользователи SAS-3: Осторожно поместите штатив для образцов в соответствующий адаптер. Убедитесь, что штатив надежно установлен.



Тел. +44 (0)191 482 8440
Факс +44 (0)191 482 8442
Эл. почта info@helena-biosciences.com

www.helena-biosciences.com

Helena Biosciences Europe Queensway South,
Team Valley Trading Estate, Gateshead,
Tyne and Wear, NE11 0SD, United Kingdom

2. Извлечь гель из упаковки:

i) **Пользователи SAS-1 Plus:** нанести 400µл REP Rper на зону проведения электрофореза. Поместить гель на агарозой вверх, совместив положительные и отрицательные стороны с соответствующими полярностями электродов, при этом следует исключить попадание пузырьков воздуха под гель.

ii) **Пользователи SAS-3:** поместить адаптер на штырьки и нанести 400µл REP Rper в центр камеры. Поместить гель в камеру стороной с агарозой вверх, с использованием направляющей, совместив положительные и отрицательные стороны с соответствующими полярностями электродов, при этом следует исключить попадание пузырьков воздуха под гель.

3. Промокнуть поверхность геля блоттером C, утилизировать бумагу.

4. i) **Пользователи SAS-1 Plus:** подсоединить электроды к верхней части стоек электродов таким образом, чтобы они контактировали с буферными блоками геля. НЕ НАКРЫВАТЬ ГЕЛЬ.

ii) **Пользователи SAS-3:** подсоединить электроды к верхней части стоек электродов таким образом, чтобы они контактировали с буферными блоками геля.

5. Установить в прибор 1 аппликатор в в верхнюю позицию на анализаторе (**Пользователи SAS-3: слот 8**)

6. Выполните электрофорез Белков высокого разрешения:

i) **Пользователи SAS-1 Plus:** 250 вольт, 12 минут, 18C, 1 аппликатор

ii) **Пользователи SAS-3:**

Step	Time (mm:ss)	Temperature (°C)	Voltage	Other
Electrophoresis				
Load Sample	00:10	21		Speed 1
Apply Sample	00:10	21		Speed 1*
Electrophoresis	12:00	18	250	
* Use Location 1				

7. По завершении электрофореза, удалить электроды и оба буферных блока с поверхности геля используя соответствующую лопаточку.

Окрашивание геля:

а) SAS-2 (Автоматическое окрашивание)



Тел. +44 (0)191 482 8440
Факс +44 (0)191 482 8442
Эл. почта info@helenalab.com
www.helena-biosciences.com

Helena Biosciences Europe Queensway South,
Team Valley Trading Estate, Gateshead,
Tyne and Wear, NE11 0SD, United Kingdom

Step	Solution	Time (mm:ss)	Port	Temperature (°C)
Stain	Hi-Res Stain	15:00	5	
Destain	Destain solution	00:30	3	
Dry	—	10:00		65
Destain	Destain solution	01:00	3	
Destain	Destain solution	01:00	3	
Wash	Purified water	01:00	1	
Dry	—	05:00		65

б) Ручное

Следуйте последовательности действий, указанной для прибора для автоматического окрашивания SAS-2, используя лоток для окрашивания, фиксации, обесцвечивания и промывки, и сушильную печь для шагов сушки.

Альтернативные процедуры окрашивания

Два альтернативных протокола окрашивания доступны в зависимости от желаемой окраски по требованию пользователя.

1. Замена на краситель Амидо черный (кат. № 3048) для окрашивания фракций белков высокого разрешения. Только для образцов сыворотки или плазмы. Следуйте протоколу окрашивания, как говорилось выше.

Амидо черный краситель менее чувствительный, чем кумасси краситель, но он обеспечивает более равномерное качество окрашивания, что позволяет улучшить качественную оценку в различиях интенсивности полос.

2. Техника двойного окрашивания. ТОЛЬКО для ЦСЖ и мочи. После электрофореза выполнить окраску с амидо черным красителем до завершения геля, затем выполнить окраску с кумасси до завершения геля.

Метод двойного окрашивания может позволить выполнить четкую визуализацию в моче белковых полос и полос и олигоклональных полос в CSF.

ПРИМЕЧАНИЕ: Не окрашивайте гель в SAS-4, так как краситель и обесцвечивающий раствор содержат метанол.

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Рекомендуется выполнять оценку гелей относительно нормальных значений, полученных для данного метода в каждой отдельной лаборатории.

Осмотрите гель на наличие или отсутствие полос частных белков.

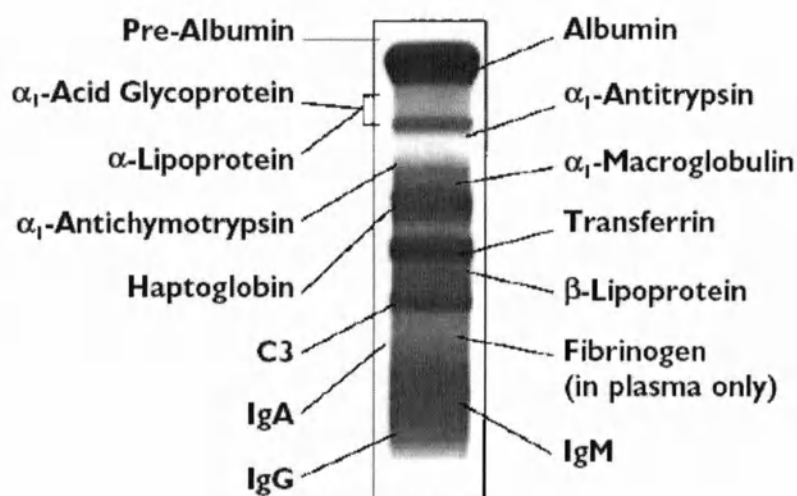
На рисунке 1 показана миграция основных белков плазмы, которые могут быть определены с использованием SAS-1 Plus на гелях для высокого разрешения.



Тел. +44 (0)191 482 8440
Факс +44 (0)191 482 8442
Эл. почта info@helena-biosciences.com

www.helena-biosciences.com

Helena Biosciences Europe Queensway South,
Team Valley Trading Estate, Gateshead,
Tyne and Wear, NE11 0SD, United Kingdom



Высокое разрешение структуры белка электрофореза главным образом интерпретируется путем сравнения относительной интенсивности полос полученной от неизвестных образцов с данными, полученными от нормальных пациентов.

Одной из самых распространенных моделей ненормальных белков сыворотки крови, это когда наблюдается неспецифическая воспалительная реакция, которая характеризуется увеличением α_1 -антитрипсина и гаптоглобина с пониженной фракцией преальбумина, альбумина и трансферрина. Хотя это не является полезной в создании общей диагностики, полезно в мониторинге ответ пациента на терапию.

Другие примеры клинически значимых изменений являются:

1. Повышение группы трансферрина, что свидетельствует о низком уровне железа.
2. Наличие моноклональных белков, что свидетельствует о нарушении в иммунной системе.
3. Низкий уровень гаптоглобина, предполагает повышенное разрушение эритроцитов или в лабораторных условиях гемолиз.

4. Наличие CRP, указывает на острую воспалительную реакцию.
5. Низкий преальбумин, альбумин и трансферрин с диффузной гипергаммаглобулинемией, предполагает хроническое воспаление, инфекцию или антигенную стимуляцию.
6. Низкий уровень C3 в свежих образцах, предполагает комплемент.

Высокое разрешение белков методом электрофореза - это отличный аналитический инструмент, чтобы получить общее представление о белках в моче^{3, 10}. Нормальная моча обычно содержит следы белка, а иногда и слабые группы трансферрина. Гломерулярные протеинурии обычно состоят из выраженных полос альбумина, как α_1 -кислого гликопротеина и α_1 -антитрипсина в широкой зоне α_1 и трансферрина в β_1 регионе. В сыворотке мы видим сокращение этих белков, с увеличением белков клубочков. Шаблон в моче протеинурия трубчатые обычно consists в обморок группы, альбумин, двойная полоса в α_2 регионе в связи с α_2 -микроглобулином, сильная полоса в середине бета региона в связи с β_2 -микроглобулина, а иногда и диффузный фон окраски гамма области за счет свободных легких цепей. Хронические заболевания почек или почечная недостаточность

может привести к смешанной формам, вызванным повреждением, как канальцев, так и клубочков.

Увеличение или снижение, в частности, компонентов образца или выявления необычных образцов компонентов требует дальнейшего изучения. Окрашенный гель SAS-1 Plus с высоким разрешением стабилен в течение неопределенного периода времени.

АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Чувствительность

Метод чувствителен к 60 мг / л для каждого полосы, определяется как минимальная концентрация белка, который был определен по завершению анализа геля.

Линейность

Линейность метода зависит от спецификации денситометра, а также производительности геля.

Рекомендуется, чтобы каждый пользователь определял линейность метода, основанную на денситометре, используемого в лаборатории.

ЛИТЕРАТУРА

1. Alper, C.A. 'Plasma Protein Measurements as a Diagnostic Aid', *N. Eng. J. Med.*, 1974; 291 : 287-290.
2. Tiselius, A. 'A New Approach for Electrophoretic Analysis of Colloidal Mixtures', *Trans. Faraday Soc.*, 1937; 33 : 524.
3. Laurell, C.B. 'Composition and Variation of the Gel Electrophoretic Fractions of Plasma, Cerebrospinal Fluid and Urine' *Scand. J. Clin. Lab. Invest.*, 1972; 29 (Suppl. 24) : 71.
4. Killingsworth, L.M. et al. 'Protein Analysis, Deciphering Cerebrospinal Fluid Patterns' *Diag. Med.*, 1980; March/April : 1-7.
5. Killingsworth, L.M. et al. 'Protein Analysis, Finding Clues to Disease in Urine' *Diag. Med.*, 1980; May/June : 69-75.
6. Killingsworth, L.M. 'Clinical Applications of Protein Determinations in Biological Fluids Other Than Blood' *Clin. Chem.*, 1982; 28(5) : 1093-1102.
7. Ritzmann, S.E and Daniels, J.C. 'Diagnostic Proteinology: Separation and Characterization of Proteins. Qualitative and Quantitative Assays' in *Laboratory Medicine*, Harper & Row, Inc., Hagerstown, 1979.
8. Killingsworth, L.M. et al. 'Protein Analysis' *Diag. Med.*, 1980; Jan/Feb : 3-15.
9. Killingsworth, L.M. 'Plasma Protein Patterns in Health and Disease' *CRC Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences*, August 1979.
10. Peterson, P.A., Ervin, P.E. and Beggard, I. 'Differentiation of Glomerular, Tubular and Normal Proteinuria: determination of Urinary Excretion of α 2-microglobulin, Albumin and Total Protein' *J. Clin. Invest.*, 1969; 48 : 1189-1198.



Тел. +44 (0)191 482 8440
 Факс +44 (0)191 482 8442
 Эл. почта info@helenabiosciences.com

www.helena-biosciences.com

Helena Biosciences Europe Queensway South,
 Team Valley Trading Estate, Gateshead,
 Tyne and Wear, NE11 0SD, United Kingdom

Тест-система "Белки сыворотки-10" для прибора SAS-MX (SAS-MX "SP-10 Kit"),

Тест-система "Белки сыворотки-60" для прибора SAS-3 (SAS-3 "SP-60 Kit"),

Тест-система "Белки сыворотки-100" для прибора SAS-3 (SAS-3 "SP-100 Kit")

НАЗНАЧЕНИЕ

Тест-система Белки сыворотки предназначена для разделения и количественного определения белков сыворотки методом электрофореза в агарозном геле.

Сыворотка содержит более 100 отдельных белков, каждый со специальным набором функций, и концентрация которых подлежит специфическим вариациям при различных патологических состояниях.¹

Со времени изобретения Тиселиусом (Tiselius)² электрофореза с подвижной границей и последующего использования зонального электрофореза белки сыворотки были разделены на фракции на основе их заряда при определенном pH. Набор SAS-1 Белки сыворотки предназначен для разделения белков сыворотки на 5 основных классов (альбумин, альфа-1 глобулин, альфа-2 глобулин, бета-глобулин, и гамма-глобулин) в соответствии с зарядом в агарозном геле. Затем белки окрашивают с целью визуализации и количественной интерпретации. Каждая из классических зон электрофореза, за исключением альбумина, обычно содержит 2 или более компонентов. Данные о пропорциональном отношении этих фракций зарекомендовали себя как хорошее вспомогательное средство при диагностике и прогнозировании определенных патологических состояний.³⁻⁵

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Все реагенты предназначены только для диагностического использования в условиях in-vitro. Не глотать и не пипетировать ртом ни один компонент набора. Надевать перчатки при работе со всеми компонентами набора. См. паспорт безопасности химического вещества, положения о рисках и обеспечении безопасности, а также информацию об утилизации.

СОСТАВ

1. SAS-1 Гель для белков сыворотки

Содержит агарозу в Трис/барбитал буфере с тиомерсалом и азидом натрия в качестве консерванта. Гель упакован готовым к употреблению.

2. Кислотный синий краситель, концентрат

Содержит концентрированный кислотный синий краситель. Довести содержимое бутылки до 700 мл с использованием очищенной воды. Перемешать, оставить на ночь, отфильтровать перед использованием. Хранить в бутылки с плотно закрывающейся крышкой.

3. Обесцвечивающий раствор, концентрат

Содержит концентрированный обесцвечивающий раствор. Довести содержимое бутылки до 2-х литров с использованием очищенной воды. Хранить в бутылки с плотно закрывающейся крышкой.



Тел. +44 (0)191 482 8440
Факс +44 (0)191 482 8442
Эл. почта info@helena-biosciences.com

www.helena-biosciences.com

Helena Biosciences Europe Queensway South,
Team Valley Trading Estate, Gateshead,
Tyne and Wear, NE11 0SD, United Kingdom

4. Другие компоненты набора

Каждый набор содержит инструкцию по применению и достаточное количество промокатальной бумаги C для выполнения 10 гелей.

УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И СРОК ГОДНОСТИ

1. SAS-I Гель для белков сыворотки.

Гель следует хранить при температуре 15-30°C, в этом случае гели сохраняют стабильность до окончания срока годности, указанного на упаковке. НЕ ОХЛАЖДАТЬ И НЕ ЗАМОРАЖИВАТЬ. Испорченный гель можно определить по следующим признакам: 1) кристаллический внешний вид, который указывает на то, что гель был заморожен; 2) ломкость и отслаивание, свидетельствующие о высыхании геля; 3) видимое загрязнение агарозы бактериальными или грибковыми источниками.

2. Кислотный синий краситель

Концентрат красителя следует хранить при температуре 15-30°C, в этом случае он сохраняет стабильность до окончания срока годности, указанного на ярлыке. Раствор красителя стабилен в течение 6 месяцев при температуре 15-30°C. Рекомендуется незамедлительно утилизировать использованный краситель в целях предотвращения снижения окрашивающей способности. Низкая эффективность окрашивания может указывать на порчу раствора красителя.

3. Обесцвечивающий раствор

Концентрат обесцвечивающего раствора следует хранить при температуре 15-30°C, в этом случае он сохраняет стабильность до окончания срока годности, указанного на ярлыке. Раствор стабилен в течение 6 месяцев при температуре 15-30°C.

НЕОБХОДИМЫЕ КОМПОНЕНТЫ, НЕ ВКЛЮЧЕННЫЕ В НАБОР

Номер по каталогу 210200 Ножи аппликатора для образцов (1 x 10)

Номер по каталогу 210300 Ножи аппликатора для образцов (5 x 10)

Номер по каталогу 210100 Одноразовые колпачки для образцов (100)

Номер по каталогу 3100 REP Prep

Сушильная печь с принудительным движением воздуха, нагрев до 60-70°C

Фиксирующий раствор: смешать 500 мл метанола и 500 мл очищенной воды. Добавить 100 мл ледяной уксусной кислоты. Хранить в бутылки с плотно закрывающейся крышкой.

Очищенная вода

ОТБОР И ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦОВ

Предпочтение следует отдать свежесобраным образцам сыворотки. Образцы сыворотки допускается хранить при температуре 15-30°C до 4-х дней, при 2-6°C до 2-х недель или 6 месяцев при -20°C.⁶ Также допускается использовать мочу и спинномозговую жидкость, выполнив соответствующие действия по изменению концентрации (50-100X). Использование плазмы приводит к появлению фибриногеновой полосы между бета- и гамма-фракциями.

Интерферирующие факторы: 1) Гемолиз может стать причиной ложно повышенных уровней фракций альфа 2 и бета. 2) Неточные результаты могут быть получены по образцам, оставленным на открытом воздухе, по причине испарения.



Тел. +44 (0)191 482 8440
Факс +44 (0)191 482 8442
Эл. почта info@helena-biosciences.com

www.helena-biosciences.com

Helena Biosciences Europe Queensway South,
Team Valley Trading Estate, Gateshead,
Tyne and Wear, NE11 0SD, United Kingdom

ПОШАГОВАЯ ПРОЦЕДУРА

1. Пипетировать 35μл образца в соответствующую лунку поддона для образцов SAS-1 или в одноразовый колпачок для образцов.

i) **Пользователи SAS-1 и SAS-1 Plus:** Осторожно поместить поддон для образцов в ящик аппликатора. Установить поддон в соответствующее положение с применением нажатия.

ii) **Пользователи SAS-3:** Осторожно поместить поддон для образцов при помощи позиционирующих штырьков для поддона с образцами. Убедитесь, что поддон надежно установлен.

2. Извлечь гель из упаковки, удалить верхний слой и:

i) **Пользователи SAS-1:** поместить гель в SAS-1 стороной с агарозой вверх, соединив положительные и отрицательные стороны с соответствующими стойками электродов.

ii) **Пользователи SAS-1 Plus:** нанести 400μл REP Prep на теплоотвод. Поместить гель на теплоотвод стороной с агарозой вверх, совместив положительные и отрицательные стороны с соответствующими стойками электродов, при этом следует исключить попадание пузырьков воздуха под гель.

iii) **Пользователи SAS-3:** поместить направляющую на штырьки и нанести 400μл REP Prep на центр камеры. Поместить гель в камеру стороной с агарозой вверх, с использованием направляющей, совместив положительные и отрицательные стороны с соответствующими стойками электродов, при этом следует исключить попадание пузырьков воздуха под гель.

3. Промокнуть поверхность геля промокающей бумагой C, утилизировать бумагу.

4. i) **Пользователи SAS-1:** подсоединить электроды к верхней части стоек электродов таким образом, чтобы они контактировали с блоками геля.

ii) **Пользователи SAS-1 Plus:** (см. выше). Поместить крышку на гель и электроды и плотно прижать на 5 секунд для обеспечения контакта.

iii) **Пользователи SAS-3:** подсоединить электроды к стойкам таким образом, чтобы они контактировали с блоками геля.

5. Установить в прибор 2 ножа аппликатора в сборе в соответствующую позицию (**Пользователи SAS-3: слот A и 10**).

6. Выполнить электрофорез белков сыворотки:

i) **Пользователи SAS-1:** 80 вольт, 20 минут, 1 нанесение

ii) **Пользователи SAS-1 Plus:** Электрофорез : 100 Вольт, 18 минут, 20°C, 1 нанесение.

iii) **Пользователи SAS-3:**

Шаг	Время (мин:сек)	Температура (°C)	Напряжение	Другое
Загрузка образца	00:30	21		Скорость 1
Нанесение пробы	00:30	21		Скорость 1*
Электрофорез	18:00	20	100	
Сушка	08:00	54		

*Использование помещения 2

ПРИМЕЧАНИЕ: Перед сушкой следует извлечь блоки геля.



Тел. +44 (0)191 482 8440
 Факс +44 (0)191 482 8442
 Эл. почта info@helenabiosciences.com
www.helena-biosciences.com

Helena Biosciences Europe Queensway South,
 Team Valley Trading Estate, Gateshead,
 Tyne and Wear, NE11 0SD, United Kingdom

7. По завершении электрофореза:

i) **Пользователи SAS-1 Plus:** снять крышку.

ii) **Пользователи SAS-1 и SAS-3:** снять электроды и удалить оба блока геля с использованием средства для удаления блоков геля.

8. Установить гель на держатель камеры для окрашивания.

9. Выбрать программу теста Serum Protein (Белки сыворотки) для устройства для окрашивания и, следуя указаниям прибора, фиксировать, окрашивать, обесцвечивать и сушить гель.

а) SAS-2 (Прибор для автоматического окрашивания)

Шаг	Раствор	Время (мин:сек)	Порт	Температура (°C)
Окрашивание	Кислотный синий краситель	10:00	6	
Промывка	Очищенная вода	01:00	1	
Сушка	---	15:00		65
Обесцвечивание	Обесцвечивающий раствор	03:00	2	
Обесцвечивание	Обесцвечивающий раствор	03:00	2	
Промывка	Очищенная вода	01:00	1	
Сушка	---	10:00		65

б) SAS-4 (Прибор для автоматического окрашивания)

Шаг	Время (мин:сек)	Температура (°C)	Другое
Окрашивание	04:00		Рециркуляция ВКЛ
Обесцвечивание	02:00		Рециркуляция ВКЛ
Обесцвечивание	02:00		Рециркуляция ВКЛ
Сушка	12:00	63	

с) Вручную

Следовать последовательности действий, указанной для прибора для автоматического окрашивания SAS-2, используя кювету для шагов фиксации, окрашивания, обесцвечивания и промывки, и сушильную печь с рециркуляцией воздуха и нагревом до 60-70°C для этапов сушки.

10. По окончании цикла окрашивания извлечь гель из камеры для окрашивания. Теперь гель готов для исследования.

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Контроли Kemtrol Serum Controls (номера по каталогу 7024 и 7025) могут быть использованы для верификации всех этапов процедуры и должны быть использованы при выполнении каждого цикла по планшету. Соответствующие справочные значения см. прилагаемый упаковочный вкладыш.



Тел. +44 (0)191 482 8440
 Факс +44 (0)191 482 8442
 Эл. почта info@helenabiosciences.com
www.helena-biosciences.com

Helena Biosciences Europe Queensway South,
 Team Valley Trading Estate, Gateshead,
 Tyne and Wear, NE11 0SD, United Kingdom

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Рекомендуется выполнять оценку гелей относительно нормальных значений, полученных для данного метода в каждой отдельной лаборатории.

Подробное рассмотрение оценки белков сыворотки см. Рицманн С.Е. (Ritzmann S.E.), 1982.⁵ Исследования показывают, что значения одинаковы как для мужчин, так и для небеременных женщин. Некоторые различия наблюдают у беременных женщин и у женщин, принимающих оральные контрацептивы.

На нормальные значения оказывает некоторое влияние возраст. В пуповинной крови отмечается пониженное значение общего белка, альбумина, альфа 2 и бета фракций; немного повышенный уровень альфа 1 и нормальный или повышенный уровень гамма фракции (в основном материнского происхождения). Количество гамма-глобулинов быстро снижается до 3-х месячного возраста, и к этому же возрасту другие фракции достигают уровня взрослого человека. Уровни гамма-глобулинов соответствуют показателям взрослого человека не ранее 10-16 летнего возраста. После 40 лет снижается уровень альбумина и повышается уровень бета глобулина.

1. Качественная оценка:

Гели можно оценить визуально на наличие или отсутствие полос, представляющих интерес.

2. Количественная оценка:

Сканировать гель, стороной с гелем вниз, при 595 нм.

В любом случае повышение или снижение уровня отдельных компонентов сыворотки или обнаружение необычных компонентов сыворотки требуют дальнейшего исследования. Выполненный гель для белков сыворотки SAS-1 стабилен в течение неопределенного периода времени.

ОГРАНИЧЕНИЯ

Так как все процедуры электрофореза не являются линейными, важно в точности следовать данной инструкции по применению с целью достижения оптимального разрешения и воспроизводимых результатов. При несоблюдении настоящей инструкции по применению полученные результаты могут быть ошибочными.

СПРАВОЧНЫЕ ЗНАЧЕНИЯ

Следующие нормальные значения были получены с использованием 20 нормальных проб доноров мужского и женского пола в возрастных рамках 20-59 лет (данные представлены только в справочных целях):

Фракция белков	Среднее (%)	±2 станд. откл. диапазон
Альбумин	60,4	55,8-65,0
Альфа 1	3,4	2,2-4,6
Альфа 2	10,3	8,2-12,5
Бета	10,7	7,2-14,2
Гамма	15,0	11,5-18,6



Тел. +44 (0)191 482 8440
Факс +44 (0)191 482 8442
Эл. почта info@helena-biosciences.com
www.helena-biosciences.com

Helena Biosciences Europe Queensway South,
Team Valley Trading Estate, Gateshead,
Tyne and Wear, NE11 0SD, United Kingdom

РАБОЧИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Воспроизводимость

	Гель (n=16)		Между гелями (n=95)	
	Средняя (%)	Коеф. вар. (%)	Средняя (%)	Коеф. вар. (%)
Альбумин	60,1	1,7	60,4	2,3
Альфа 1	4,2	7,5	4,3	7,3
Альфа 2	11,4	4,1	10,3	7,8
Бета	10,5	2,1	11,2	6,8
Гамма	13,8	3,0	13,8	5,5

Чувствительность

Данный метод чувствителен к 0,3 г/л на полосе, что было определено как самая малая концентрация белка, которая была явно видна как отдельная полоса на выполненном геле.

Линейность

Линейность метода – это функция спецификации денситометра, а также эффективность геля. Рекомендуется, чтобы каждый пользователь определил линейность метода, основываясь на используемом в лаборатории денситометре.

БИБЛИОГРАФИЯ

1. Alper, C.A. 'Plasma Protein Measurements as a Diagnostic Aid', *N. Eng. J. Med.*, 1974; 291 : 287-290.
2. Tiselius, A. 'A New Apparatus for Electrophoretic Analysis of Colloidal Mixtures', *Trans. Faraday Soc.*, 1937; 33 : 524.
3. Ritzmann, S.E. and Daniels, J.C. 'Diagnostic Proteinology: Separation and Characterization of Proteins, Qualitative and Quantitative Assays' in *Laboratory Medicine*, Harper and Row, Inc., Hagerstown, 1979.
4. Tietz, N.W. (Ed.), *Textbook of Clinical Chemistry*, W.B. Saunders Co., Philadelphia, pages 579-582, 1986.
5. Ritzmann, S.E. (Ed.), *Protein Abnormalities Volume 1 : Physiology of Immunoglobulins - Diagnostic and Clinical Aspects*, Allen R. Liss, Inc., New York, 1982.
6. Tietz, N.W. (Ed.), *Textbook of Clinical Chemistry, (3rd Edition)*, W.B. Saunders Co., Philadelphia, page 524, 1995.



Тел. +44 (0)191 482 8440
Факс +44 (0)191 482 8442
Эл. почта info@helena-biosciences.com
www.helena-biosciences.com

Helena Biosciences Europe Queensway South,
Team Valley Trading Estate, Gateshead,
Tyne and Wear, NE11 0SD, United Kingdom

Тест-система "Изоферменты Креатинкиназы" (визуальный детектор) для приборов SAS-MX, SAS-1, SAS-3 (SAS-MX, SAS-1, SAS-3 "CK VIS Kit")

ПРИМЕНЕНИЕ

Тест-система предназначена для разделения и количественного определения изоферментов креатинкиназы в сыворотке или плазме методом электрофореза на агарозном геле. Креатинфосфокиназа (КФК) (ЕС 2.7.3.2.) является ферментом, передачи энергии, который катализирует обратимую реакцию:



СК существует в первую очередь в скелетных мышцах, сердечной мышце и головном мозге, причем небольшое количество есть и в ряде других тканей. Количество разнообразных клинических эпизодов, таких как хирургическое вмешательство, внутримышечные инъекции и инфаркта миокарда стимулируют увеличение активности КФК в сыворотке крови 2,3. При повышенной активности СК необходимо проводить изоферментную оценку. Есть две молекулярных субъединицы СК, обозначаемых как М и В, комбинации, которые производят три вида изоферментов. СК-ММ (в основном в скелетных мышцах), СК-МВ (миокард) и СК-ВВ (прежде всего головной мозг).

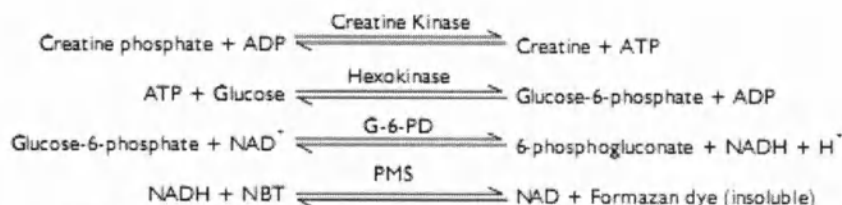
Анализ изоферментов СК является одной из наиболее важных процедур, используемых при раннем обнаружении повреждения миокарда. После острого инфаркта миокарда (ИМ), СК-МВ появляется в сыворотке крови приблизительно от 4 до 6 часов, достигает пика активности на 18-24 часов, и может исчезнуть полностью в течение 72 часов. В течение первых 48 часов после перенесенного ИМ, СК-МВ присутствует у 100% пациентов с ИМ, а также в некоторых случаях при тяжелой коронарной недостаточности 1,3,5. Наиболее обоснованным лабораторным тестом в диагностике ИМ является проведение исследований изофермента СК в сочетании с изоферментами лактатдегидрогеназы (LD) 3,5-8. Специфичность и чувствительность достигается при этих двух тестах и устраняет необходимость проведения дополнительных исследований фермента при точной диагностики инфаркта миокарда. Наиболее важным фактором в интерпретации изоферментов СК и ЛДГ является выявление характерного изменения структуры – появления многочисленных полос (сравнительно быстрое появление и исчезновение СК-МВ и LD1 над LD2) 1,3,9. Персистирующее увеличение СК-МВ не свидетельствует об инфаркте миокарда. СК-МВ может быть полезной в диагностике малых инфарктов, при которых общая активность СК не превышает верхней границы нормы. СК вырабатывает миокардом только 25-40% СК-МВ, а остальное - это СК-ММ. Таким образом, подъем СК в связи с инфарктом миокарда происходит не только за счет роста СК-МВ, но и СК-ММ. Изоферменты СК были оценены различными методами. Электрофорез дает явное преимущество полного разделения изоферментов без риска пересечения. Изоферменты СК разделяются в соответствии с их электрофоретической подвижностью в агарозном геле, после инкубации с реагентами,



Тел. +44 (0)191 482 8440
 Факс +44 (0)191 482 8442
 Эл. почта info@helena-biosciences.com
www.helena-biosciences.com

Helena Biosciences Europe Queensway South,
 Team Valley Trading Estate, Gateshead,
 Tyne and Wear, NE11 0SD, United Kingdom

визуализирует изоферменты СК в соответствии со следующей последовательности реакции:



Фракции могут быть качественно рассмотрены или фракции могут быть количественно оценены с помощью денситометрии.

БЕЗОПАСНОСТЬ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Все реагенты предназначены ТОЛЬКО для диагностики *in vitro*. Не глотать и не пипетировать ртом не один из компонентов набора. Надевайте перчатки при работе с набором.

СОСТАВ

1. SAS - 1 СК изоферменты, гель

Состоит из агарозы в барбиталовом буфере азида натрия в качестве консерванта. Гель готов к использованию в упакованном виде.

2. СК изоферменты, реагент.

Содержит компоненты, необходимые для определения изоферментов креатинкиназы по последовательности реакции, указанной выше.

3. СК изоферменты, разбавитель.

Содержит MES, сахарозу и азид натрия в качестве консерванта. Разбавитель готов к использованию в упакованном виде.

4. СК изоферменты, хромоген

Содержит тетранитро тетразолий (TNBT) и диметилформамид (DMF). Хромоген готов к использованию в упакованном виде.

5. СК изоферменты, активатор.

Состоит из 2-меркаптоэтанола в воде. Активатор готов к использованию в упакованном виде.

6. Другие компоненты набора

Каждый набор содержит инструкцию по использованию, и достаточное количество блоттера С и реагентов для распределения на 10 гелей.

Хранение и срок годности

1. SAS-1 СК изоферменты, гель

Гели должны храниться при температуре 15 ... 30 ° С и стабильны до срока годности, указанного на упаковке. НЕ хранить в холодильнике и не замораживать. Ухудшение геля можно выявить по следующим признакам 1) появление кристаллов, указывает на то, что



Тел. +44 (0)191 482 8440
 Факс +44 (0)191 482 8442
 Эл. почта info@helena-biosciences.com

www.helena-biosciences.com

Helena Biosciences Europe Queensway South,
 Team Valley Trading Estate, Gateshead,
 Tyne and Wear, NE11 0SD, United Kingdom

гель был заморожен, 2) трещины и шелушения указывают на то, что гель высох и 3) видимые загрязнения агарозы - бактериальной или грибковой природы.

2. СК изоферменты, реагент

Флаконы с реагентом должны храниться при температуре 2 ... 6 ° C и быть стабильны до истечения срока годности, указанного на этикетке.

3. СК изоферменты, разбавитель

Растворитель следует хранить при 2 ... 6 ° C, устойчив до истечения срока годности, указанного на этикетке.

4. СК изоферменты, хромоген

Хромоген должен храниться при температуре +2 ... +6 ° C, устойчив до истечения срока годности, указанного на этикетке.

5. СК изоферменты, активатор

Активатор должен храниться при температуре +2 ... +6 ° C, устойчив до истечения срока годности, указанного на этикетке.

МАТЕРИАЛЫ НЕОБХОДИМЫЕ, НО НЕ ПОСТАВЛЯЕМЫЕ

Cat. № 310200 аппликаторы (1 x 10)

Cat. № 310300 аппликаторы (5 x 10)

Cat. № 210100 одноразовых ячейки для образцов (100)

Cat. № 4062 инкубатор.

Сушильная печь с принудительной воздушной циркуляцией 60 ... 70 ° C.

Инкубатор на 45 ° C.

Обесцвечивающий раствор: Смешайте 100 мл ледяной уксусной кислоты и 900 мл очищенной воды. Хранить в плотно закрытой бутылке.

Дистиллированная вода

ПРОБОПОДГОТОВКА

Свежесобранные образцы сыворотки. Образцы должны быть проанализированы как можно скорее после сбора.

При необходимости образцы могут храниться в холодильнике при температуре 2 ... 6 ° C до 48 часов²³ или быть заморожены при температуре -20 ° C до 2 недель²³. Необходимо размораживать при комнатной температуре.

Взятие пробы: сроки отбора проб имеют важное значение для точной интерпретации фракций изоферментов СК при оценки развития инфаркта миокарда (ИМ). Минимум 4 образца должны быть собраны - 1 при поступлении, а затем образцы каждые 8-12 часов в течение как минимум 36 часов.

ИНТЕРФЕРЕНЦИЯ:

1) Эритроциты не содержат СК, но продукты гемолиза могут столкнуться с реакцией последовательность фермента, поэтому гемолизированные образцы не рекомендуется использовать²¹.

2) неоднократное замораживание и оттаивание образцов разрушает активность СК.

3) Некоторые лекарства могут повлиять на активность изоферментов СК²².

4) СК инактивируется при высокой температуре²¹.



Тел. +44 (0)191 482 8440
Факс +44 (0)191 482 8442
Эл. почта info@helena-biosciences.com
www.helena-biosciences.com

Helena Biosciences Europe Queensway South,
Team Valley Trading Estate, Gateshead,
Tyne and Wear, NE11 0SD, United Kingdom

5) В некоторых образцах, альбумин может находиться в видимом диапазоне между MB и BB фракцией.

ПОШАГОВАЯ ИНСТРУКЦИЯ

К 100 мкл каждого образца/контроля добавить 1 µl Активатора изоферментов СК и перед использованием инкубировать при 15 ... 30 ° C в течение 10 минут.

2. Отберите 35 µl образца.

i) SAS-1 и SAS-1 Plus пользователи: должны использовать адаптер штатива SAS1.

Осторожно поместите штатив с образцами в адаптер, а затем на столик для анализа. Убедитесь, что адаптер стоит на своем месте.

II), SAS-3 пользователи: должны использовать штатив для образцов SPIFE/SAS-3.

Убедитесь, что штатив расположен надежно.

3. Удаление геля из упаковки, а также:

i) SAS-1 пользователи: поместите гель в SAS-1, агарозой вверх, совместив положительные и отрицательные стороны с соответствующим электродом.

II), SAS-1 Plus пользователи: распределите 2 мл теплоотводящей жидкости по камере и осторожно поместите гель в камеру агарозой вверх, совместите отверстия в геле с штырьками на камере и избегайте образование пузырьков под гелем.

III) SAS-3 пользователи: распределите 2 мл теплоотводящей жидкости по камере и осторожно поместите гель в камеру агарозой вверх, совместите отверстия в геле с штырьками на камере и избегайте образование пузырьков под гелем.

4. Промокните поверхность геля с блоттером C, выбросьте блоттер.

5. я) SAS-1 пользователи: прикрепите электроды на внешнюю сторону электрододержателя, так чтобы они находились в контакте с гелем блоков.

II), SAS-1 Plus пользователи: (см. выше). Установите крышку на гель и электроды, крепко на 5 секунд прижмите ее чтобы обеспечить контакт.

III), SAS-3 пользователи: прикрепите электроды на внешнюю сторону электрододержателя, так чтобы они находились в контакте с гелем блоков.

6. Установите 1 аппликатор в верхнем положении на анализаторе, (SAS-3 пользователи: слот 8).

7. Выполните электрофорез СК:

я) SAS-1 пользователи: 100 вольт, 15 минут, 6 нанесений

II), SAS-1 Plus пользователи: Электрофорез: 80 вольт, 20 мин, 15 ° C, 6 нанесений

инкубационный Шаг 1: 30 минут, 45 ° C

III), SAS-3 пользователи:

Step	Time (mm:ss)	Temperature (°C)	Voltage	Other
Load Sample	00:10	21		Speed 1
Apply Sample	00:10	21		Speed 1*
Repeat steps 'load sample, apply sample' for a total of 6 applications.				
Electrophoresis	15:00	20	100	

* используется позиция 1



Тел. +44 (0)191 482 8440
Факс +44 (0)191 482 8442
Эл. почта info@helenabiosciences.com

www.helena-biosciences.com

Helena Biosciences Europe Queensway South,
Team Valley Trading Estate, Gateshead,
Tyne and Wear, NE11 0SD, United Kingdom

8. SAS-1 и SAS-3 пользователи: Хотя образцы электрофореза, места ткани смоченной воды в камере инкубации и место в инкубаторе установлена на уровне 45 ° C, чтобы уравновесить.
9. Примерно за 3-4 минут до окончания электрофореза, разведите 1 флакон изофермента СК реагента путем добавления 1 мл раствора для разведения изофермента СК и 70µl СК изофермента хромогенного реагенты и хорошо перемешайте. Не трясите.
10. После электрофореза:
 - я) SAS-1 и SAS-3 пользователи: поместите гель агарозы стороной вверх в инкубатор.
 - II), SAS-1 Plus пользователи: Снимите крышку.
11. Вылейте содержимое флакона СК Реагента на середину геля.
12. Хорошо распределите реагент по гелю, избегая пузырьков воздуха.
- я) SAS-1 и SAS-3 пользователи: Инкубировать гель: 5 минут, 45 ° C.
- II), SAS-1 Plus и SAS-3 пользователи: Инкубировать гель.
13. SAS-1 и SAS-3 пользователи: Снять пленку и продолжать инкубацию: 30 минут, 45 ° C.
14. После инкубации (SAS-1 Plus: удалить пленку), также удалить блоки гелей с использованием специальной лопаточки.
15. Промойте гель в обесцвечивающем растворе в течение 10 минут.
16. Промойте гель быстро в очищенной воде и высушите при температуре 60 ... 70 ° C.

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Рекомендуется, чтобы любая оценка геля осуществлялась в диапазоне нормальных значений, которые были изготовлены для этого теста в каждой отдельной лаборатории. Проанализированные гели должны храниться в темноте любое время. Качественная оценка: SAS СК-1 изоферменты могут быть визуальным проверены на наличие или отсутствие определенных фракций. Количественная оценка: Сканирование геля при 590nm течение 1 часа после завершения. СК-BB наиболее динамично развивающихся, ближе к аноду и СК-MM медленное перемещение к катодной зоне. СК-MB мигрирует в промежутке между СК-MM и СК-BB 1-3. Число атипичных полос СК не поступало. Нетипичные полосы, мигрирующих между СК-MB, отнесены к СК-BB к IgG и СК-MM с комплексным липопротеинов, а также другим лицам без положительной идентификации. Митохондриальная СК мигрирует рядом с СК-MM и группа назначенные макро-СК изолирована от больного раком и мигрирует в катодной зоне рядом с СК-MM.

СК-MM

Зачастую единственный изофермент СК в нормальной сыворотке 1.

Повышенные концентрации в скелетных мышцах при травме, повреждения миокарда или черепно-мозговой травме 1,3.

СК-MB

Могут присутствовать в сыворотке здоровых лиц в размере 0-4% 24. В небольших количествах активность СК-MB может быть интерпретирована как предупреждение возможного инфаркта миокарда и должна сопровождаться серийным определением изоферментов СК и ЛДГ. Позитивные указанием инфаркта миокарда при соблюдении следующих критериев: надлежащего клинических 2, активность СК-MB > 5% от общей активности СК и минимум 10 IU/L1, 15,25, СК-MB приведены характерные изменения



Тел. +44 (0)191 482 8440
 Факс +44 (0)191 482 8442
 Эл. почта info@helena-biosciences.com

www.helena-biosciences.com

Helena Biosciences Europe Queensway South,
 Team Valley Trading Estate, Gateshead,
 Tyne and Wear, NE11 0SD, United Kingdom

в шаблон (относительно быстрого появления и исчезновения) 1,3,9.

Позитивные идентификации второго инфаркта миокарда: после первых ИМ. СК-МВ возрастает после начинает снижаться. Общая СК не может показывать рост после начала снижения.

Значения изоферментов СК и ЛДГ при операциях на открытом сердце³ менее конкретные, чем в большинстве диагностических ситуаций. СК-МВ будет повышена в связи с поражением миокарда в следствии оперативной процедуры, а также травмы в сердце от манипуляций и катетеризации. ЛДГ переворачивается вторичным по отношению к гемолизу с искусственным кровообращением. Пациенты с инфарктом имеют более высокий уровень активности КФК-МВ, но широкий спектр активности изофермента не связан с заболеванием ИМ, что перекрывает отметил пациентов с ИМ, делая полный дискриминации невозможно. Несмотря на эти трудности, точность диагностики ИМ может быть повышена путем проведения серийных определений СК-МВ в послеоперационный период и мониторинга тенденций. Пери-оперативной инфаркт пациентов, как правило, постепенное повышение уровня СК-МВ, в то время как не-больных ИМ обладают более быстрым снижением СК-МВ после операции 2, 26.

Высота при заболеваниях, кроме М.: Тяжелая коронарная недостаточность, мышечная дистрофия Дюшенна в Рокки Маунтин сыпной тиф, рабдомиолиз, дерматомиозит, миоглобинурия, полимиозит, синдром Рея.

СК-BB

Часто появляется в сыворотке крови больных раком предстательной железы, а иногда и в сыворотке крови больных с другими раками и злокачественными опухолями 1 (см. ограничений). Редко появляется в сыворотке крови больных с черепно-мозговой травмой вследствие повреждения гематоэнцефалического барьера 1,27. Иногда появляется в сыворотке крови больных с тяжелым шоком (вероятно, из-за легкого или небольшого участия кишечника).

Иногда появляется в сыворотке крови больных с хронической почечной недостаточностью. Число атипичных полос СК не поступало. Нетипичные полосы, мигрирующие между СК-МВ и СК-ММ были отнесены к СК-BB к комплексу с IgG 28, 29 и комплексу СК-ММ с липопротеидами 30, а также другим лицам без положительного определения 31-33.

Митохондриальная СК мигрирует в катодной области СК-ММ 34, и группа, обозначенная "СК макро", изолирована от больных раком и мигрирует в катодно-СК-ММ 35.

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

СК/LD контроля (кат. № 5134) может быть использована для проверки на всех этапах процедуры и должна быть использована на каждом геле. Обратитесь к листку-вкладышу для анализа приемлемых значений.

ОГРАНИЧЕНИЯ

SAS-1 СК изоферменты - процедура не предназначена для выявления опухолевых маркеров. Эталонные значения

Нормальный диапазон исследований осуществляется с использованием практически здоровых мужчин и женщин-добровольцев дали следующие результаты:

СК-ММ = 100% СК-МВ = 0% СК-BB = 0%



Тел. +44 (0)191 482 8440
 Факс +44 (0)191 482 8442
 Эл. почта info@helena-biosciences.com

www.helena-biosciences.com

Helena Biosciences Europe Queensway South,
 Team Valley Trading Estate, Gateshead,
 Tyne and Wear, NE11 0SD, United Kingdom

ТЕХНИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Линейность

Метод линеен при активности СК до 1300 МЕ/л в каждой фракции.

Чувствительность

Метод чувствителен от 4 МЕ/л для каждой фракции.

Воспроизводимость

	Within Gel (n=8)		Between Gel (n=4)	
	Mean (%)	CV (%)	Mean (%)	CV (%)
CK-MM	68.3	2.9	69.5	6.6
CK-MB	10.3	6.3	10.8	16.4
CB-BB	21.4	7.3	19.7	17.8

ЛИТЕРАТУРА

1. Brish, L.K., 'CK & LD Isoenzyme. A Self-Instructional Text', Am. Soc. Of Clin. Path. Press, Chicago, 1984 : 30-47.
2. Wolf, P.L., Griffiths, J.C and Koett, J.W., 'Interpretation of Electrophoretic Patterns of Proteins and Isoenzymes', Mason Publishers, New York, 1981 : 60.
3. Tietz, N.W., Ed. 'Textbook of Clinical Chemistry', W.B. Saunders Co., Philadelphia, 1986 : 678-700.
4. Galen, R.S., 'The Enzyme Diagnosis of Myocardial Infarction', Human Path., 1975; 6(2): 141-155.
5. Wagner, G.S., Roe, C.R., Limbird, L.E., Rosati, R.A. and Wallace, A.G., 'The Importance of Identification of the Myocardial-Specific Isoenzyme of Creatine Phosphokinase (MB Form) in the Diagnosis of Acute Myocardial Infarction', Circulation, 1973; 47: 263-269.
6. Marmor, A. and Alpan, G., 'Specificity of Creatine Kinase MB Isoenzyme for Myocardial Injury', Clin. Chem., 1978; 24(12): 2206.
7. Galen, R.S., Reiffel, J.A. and Gambino, S.R., 'Diagnosis of Acute Myocardial Infarction', J. Am. Med. Assoc., 1975; 232(2): 145-147.
8. Frolich, J., Brosseuk, A., Grant, A. and McLennan, M., 'Study of the Value of CPK and LDH Isoenzyme Determinations in the Differential Diagnosis of Ischemic Chest Pain', Clin. Biochem., 1978; 11(6): 232-234.
9. Yasmineh, W.G., Pyle, R.B., Cohn, J.N., Nicoloff, D.M., Hanson, N.Q. and Steele, B.W., 'Serial Serum Creatine Phosphokinase MB Isoenzyme Activity After Myocardial Infarction', Circulation, 1977; 55(5): 733-737.
10. D'Souza, J.P., Sine, H.E., Horvitz, R.A., Kubasik, N.P., Brody, B.B. and Barold, S.S., 'The Significance of the MB Isoenzyme in Patients with Acute Cardiovascular Disease with a Normal or Borderline Total CPK Activity', Clin. Biochem., 1978; 11(5): 204-209.
11. Mercer, D.W., 'Separation of Tissue and Serum Creatine Kinase Isoenzymes by Ion-Exchange Column Chromatography', Clin. Chem., 1974; 20(1): 36-40.
12. Rao, P.S., Lukes, J.J., Ayres, S.M. and Mueller, H., 'New manual and Automated Method for Determining Activity of Creatine Kinase Isoenzyme MB, by Use of Dithiothreitol: Clinical Applications', Clin. Chem., 1975; 21(11): 1612-1618.
13. Jockers-Wretou, E. and Pfeleiderer, G., 'Quantitation of Creatine Kinase Isoenzymes in Human Tissues and Sera by an Immunological Method', Clin. Chim. Acta, 1975; 58: 223-232.
14. Roberts, R., Sobel, B.E. and Parker, C.W., 'Radioimmunoassay for Creatine Kinase Isoenzymes', Science, 1976; 194: 855-857.
15. Van Der Veen, K.J. and Willebrands, A.F., 'Isoenzymes of Creatine Phosphokinase in Tissue Extracts and in Normal and Pathological Sera', Clin. Chim. Acta, 1966; 13: 312-316.
16. Wong, R. and Swallen, T.O., 'Cellulose Acetate Electrophoresis of Creatine Phosphokinase Isoenzymes in the Diagnosis of Myocardial Infarction', Am. J. Clin. Pathol., 1975; 64: 209-216.
17. Burger, A., Richterich, R. und Aebi, H., 'Die Heterogenitat der Kreatin-Kinase', Biochemische Zeitschrift, 1964; 339: 305-314.
18. Deul, D.H. and van Breeman, J.F.L., 'Electrophoresis of Creatine Phosphokinase from Various Organs', Clin. Chim. Acta, 1964; 10: 276-283.
19. Rosalki, S.B., 'Creatine Phosphokinase Isoenzymes', Nature, 1965; 207: 414.



Тел. +44 (0)191 482 8440
Факс +44 (0)191 482 8442
Эл. почта info@helena-biosciences.com

www.helena-biosciences.com

Helena Biosciences Europe Queensway South,
Team Valley Trading Estate, Gateshead,
Tyne and Wear, NE11 0SD, United Kingdom

20. Trainer, T.D. and Gruenig, D., 'A Rapid Method for the Analysis of Creatine Phosphokinase Isoenzymes', *Clin. Chim. Acta*, 1968; 21: 151-154.
21. Henry, R.J. and Cannon, D.C., Ed's, 'Clinical Chemistry Principles and Technics', 2nd Edition, Harper and Row, New York, 1974: 901-903.
22. Young, D.S., 'Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests', 3rd Edition, AACC Press, Washington D.C., 1990.
23. Cho, H.W. and Meltzer, H.Y., 'Factors Affecting Stability of Isoenzymes of Creatine Phosphokinase', *Am. J. Clin. Pathol.*, 1979; 71(1): 75-82.
24. Marmor, A., Alpan, G., Keidar, S., Grenadier, E. and Palant, A., 'The MB Isoenzyme of Creatine Kinase as an Indicator of Severity of Myocardial Ischaemia', *Lancet*, 1978; Oct 14: 812-814.
25. Galen, R.S., Personal Communication, June 1980.
26. Galen, R.S., 'Diagnostic Tests in Cardiac and Non-Cardiac Disorders' *Diag. Med.*, 1978 Feb., 74-87.
27. Bayer, P.M., Gabl, F., Granditsch, G., Widhalm, K., Zyman, H. and Deutsch, E., 'Creatine Kinase Isoenzymes in Cerebral Fluid in a Case of Brain Damage', *Clin. Chem.*, 1976; 22(8): 1405-1407.
28. Stein, W. and Böhner, 'Immunoglobulin-Bound Creatine Kinase BB ("Macro CK") in Three Patients with Different Diseases', *Clin. Chem.*, 1979; 25(8): 1513-1514.
29. Pudek, M.R., Jacobson, B.E., Urquhart, N. and Rabkin, S.W., 'Effect of Macro Creatine Kinase BB on Results of Different Creatine Kinase Isoenzyme Methods', *Clin. Chem.*, 1982; 28(6): 1400.
30. Velletri, K., Griffiths, W.C. and Diamond, I., 'Abnormal Electrophoretic Mobility of a Creatine Kinase MM Isoenzyme', *Clin. Chem.*, 1975; 21(12): 1837-1838.
31. Sax, S.M., Moore, J.J., Giegel, J.L. and Welsh, M., 'Atypical Increase in Serum Creatine Kinase Activity in Hospital Patients', *Clin. Chem.*, 1976; 22(1): 87-91.
32. Ljungdahl, L. and Gerhardt, W., 'Creatine Kinase Isoenzyme Variants in Human Serum', *Clin. Chem.*, 1978; 24(5): 832-834.
33. Lott, J.A. and Heinz, J.W., 'A Stable, Unusual Isoenzyme of Creatine Kinase Observed in a Case of Acute Anoxia', *Clin. Chem.*, 1978; 24(6): 1047.
34. James, G.P. and Harrison, R.L., 'Creatine Kinase Isoenzymes of Mitochondrial Origin in Human Serum', *Clin. Chem.*, 1979; 25(6): 943-947.
35. Yui, Hoyuo, et al., *Clin. Chem.*, 1978; 24(11): 2054-2057.



Тел. +44 (0)191 482 8440
Факс +44 (0)191 482 8442
Эл. почта info@helena-biosciences.com

www.helena-biosciences.com

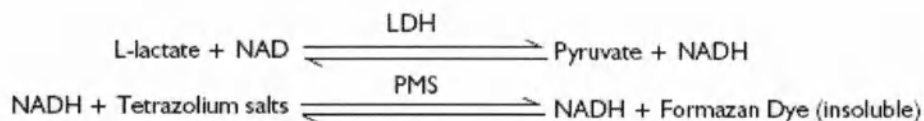
Helena Biosciences Europe Queensway South,
Team Valley Trading Estate, Gateshead,
Tyne and Wear, NE11 0SD, United Kingdom

Тест-система "Изоферменты ЛДГ" (визуальный детектор) для приборов SAS-MX, SAS-1, SAS-3 (SAS-MX, SAS-1, SAS-3 "LD VIS Kit").

ПРИМЕНЕНИЕ

Тест-система предназначена для разделения и количественного определения изоферментов ЛДГ (лактатдегидрогеназа) с помощью гель-электрофореза на агарозе.

Лактатдегидрогеназа (LD) (EC 1.1.1.27) является ферментом, который присутствует практически во всех тканях человека, в печени, скелетных мышцах, сердце и почках, имеются наибольшие концентрации. Широкое распространение ЛДГ в тканях организма, в связи с широким распространением практическая значимость определения общего уровня ЛДГ ограничена. При повышенной активности ЛДГ рекомендуется определять источник, т.е. проводить анализ изоферментов ЛДГ¹. Пять изоферментов ЛДГ могут быть выделены в сыворотке крови человека. Каждый изофермент обозначается числом, которое связано с его электрофоретической подвижности. Наиболее подвижным является (наиболее анодной) фракция ЛДГ - LD1 и встречается в основном в сердечной мышце. Самой медленной подвижностью (наиболее катодной) является фракция LD5, которая находится главным образом в печени и скелетных мышцах. Другие фракции: LD2, LD3 и LD4 находятся в той или иной степени между LD1 и LD5 во всех тканях². Наиболее важное применение изоферментов ЛДГ в диагностике повреждения миокарда. Фракция LD2 находится в высокой концентрации в нормальной человеческой сыворотке. Соотношение LD1/LD2 меньше единицы. После инфаркта миокарда (ИМ), происходит существенное повышение LD1 и в этом случае соотношение LD1/LD2 при ИМ будет приближаться или даже превышать 1, явление называют «перевернутое ЛДГ». Уровень ЛДГ начинает расти примерно через 12-24 часов после инфаркта миокарда, часто достигает уровня в два-три раза (или больше) верхней границы нормы. Пик активности обычно достигается на 3-4 день и активность может оставаться на повышенном уровне в течение двух недель после инфаркта. Наиболее обоснованное тестирование в диагностике ИМ осуществляется путем проведения определения изоферментов креатинкиназы (КК) совместно с изучением изоферментов ЛДГ 1-5. При использовании этих двух тестов специфичность и чувствительность исследований позволяет отказаться от проведения дополнительных исследований ферментов при точной диагностики ИМ. Исследования показали, что определение изоферментов СК и ЛДГ, в сочетании с клиникой и результатами ЭКГ, практически в 100% случаев является точным методом для постановки правильного диагноза ИМ^{2, 6}. Изоферментов ЛДГ были определены различными методами 7-11. Электрофорез дает явное преимущество полного разделения изоферментов ЛДГ на все 5 фракций без риска пересечения этих фракций. Для проведения электрофореза могут быть использованы различные виды носителей: ацетат целлюлоза, агар, агароза и акриламидные гели. Тест-система изоферменты ЛДГ использует модификацию метода Preston⁸ и разделяет изоферменты лактатдегидрогеназы в зависимости от подвижности в агарозном геле. Фракции изоферментов затем визуализируются при добавлении хромогенного субстрата, количественно проводится определение изоферментов в соответствии со следующей последовательностью реакции:



Фракции могут быть количественно определены с помощью денситометрии при 595nm.

БЕЗОПАСНОСТЬ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ.

Все реагенты предназначены ТОЛЬКО для диагностики *in vitro*. Не глотать и не пипетировать ртом не один из компонентов набора. Надевайте перчатки при работе с набором.

СОСТАВ

1. Изоферменты ЛДГ для SAS-1, гели.

Состоит из агарозы в барбиталовом буфере с азидом натрия в качестве консерванта. Гель готов к использованию в упакованном виде.

2. ЛДГ изоферменты, реагент. Содержит компоненты, необходимые для выявления изоферментов лактатдегидрогеназы в зависимости от последовательности реакции, указанной выше.

3. ЛДГ изоферменты, разбавитель. Содержит АМР, барбиталовый и аспартатный буфер, азид натрия в качестве консерванта. Растворитель готов к использованию в упакованном виде.

4. Другие компоненты набора. Каждый набор содержит инструкцию по применению, и достаточное количество блоттеров В, С в количестве достаточном для проведения анализа 10 гелей.

Хранение и срок годности

1. SAS-1 изоферменты ЛДГ, гели

Гели должны храниться при температуре 15 ... 30 ° С и стабильны до срока указанного на упаковке.

НЕ хранить в холодильнике и не замораживать. О порче геля свидетельствует: 1) появление кристаллических структур, указывающих на факт замораживания геля; 2) растрескивание и расслаивание, сопровождающее высыхание геля; 3) видимая бактериальная или грибковая контаминация агарозы.

2. Изоферменты ЛДГ, реагенты.

Реагенты и флаконы должны храниться при температуре 2 ... 6 ° С и стабильны до истечения срока годности, указанного на этикетке. Растворенный реагент стабилен в течение 4 часов при 15 ... 30 ° С или 48 часов при температуре 2 ... 6 ° С.

3. Изоферменты ЛДГ, разбавитель

Разбавитель следует хранить при 2 ... 6 ° С, устойчив до истечения срока годности, указанного на этикетке.

Избегайте контаминации.

ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЕ НЕОБХОДИМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

Cat.№ 210200 аппликаторы (1 x 10)

Cat.№ 210300 аппликаторы (5 x 10)

Cat.№ 210100 одноразовые ячейки для проб (100)

Cat.№ 5014 вес для проявления.



Тел. +44 (0)191 482 8440
 Факс +44 (0)191 482 8442
 Эл. почта info@helena-biosciences.com

www.helena-biosciences.com

Helena Biosciences Europe Queensway South,
 Team Valley Trading Estate, Gateshead,
 Tyne and Wear, NE11 0SD, United Kingdom

Cat. № 4062 термостат

Cat. № 3100 REP теплоотводящая жидкость

Сушильная печь с принудительной циркуляцией поддерживающая температуру 60 ... 70 °C
Термостат 45 °C

Обесцвечивающий раствор: Смешайте 100 мл ледяной уксусной кислоты и 900 мл дистиллированной воды. Хранить в плотно закрытой бутылке.

Дистиллированная вода

ПРОБОПОДГОТОВКА

Свежие образцы сыворотки. Плазма собранная с гепарином или ЭДТА также может быть использована, оксалат ингибирует активность ЛДГ и не должен использоваться. Плазма должна быть без тромбоцитов, так как тромбоциты содержат ЛДГ. Образцы должны быть проанализированы как можно скорее после сбора 12,14,15,16. При необходимости образцы могут храниться в холодильнике при температуре 15 ... 30 °C или 2 ... 6 °C до 48 часов. Не замораживать - замораживание разрушает активность LD 5 12.

Пример сбора: Правильный сроки отбора проб имеют важное значение для точной интерпретации изоферментов ЛДГ в оценке ИМ. У каждого больного надо собирать образцы не менее 3 раз: первый во время приема, второй — через 16-13 часов после и третий через 24-37 часов после приема 2-4.

Интерференция:

- 1) Гемолиз может повлиять на определение LD1 и LD2, так как эритроциты содержат высокий уровень активности ЛДГ 1-2,12.
- 2) Активность ЛДГ уменьшается в уремической сыворотке в связи с наличием таких ингибиторов, как мочевины и оксалат. Особенно страдает LD5 17.
- 3) Ацетон и хлороформ ингибируют все изоферменты, кроме LD1 14.
- 4) Некоторые лекарства могут повлиять на активность изоферментов ЛДГ 18.

ПОШАГОВАЯ ПРОЦЕДУРА ВЫПОЛНЕНИЯ АНАЛИЗА

1. Отберите 35µl образца в соответствующую позицию.

i) Пользователи SAS-1 и SAS-1 Plus: должны использовать адаптер штатива SAS1.

Осторожно поместите штатив с образцами в адаптер, а затем на столик для анализа. Убедитесь, что адаптер стоит на своем месте.

II) SAS-3 пользователи: должны использовать штатив для образцов SPIFE/SAS-3.

Убедитесь, что штатив расположен надежно.

3. Удаление геля из упаковки:

i) SAS-1 пользователи: поместите гель в SAS-1, агарозой вверх, совместив положительные и отрицательные стороны с соответствующим электродом.

II), SAS-1 Plus пользователи: распределите 2 мл теплоотводящей жидкости по камере и осторожно поместите гель в камеру агарозой вверх, совместите отверстия в геле с штырьками на камере и избегайте образование пузырьков под гелем.

III) SAS-3 пользователи: распределите 2 мл теплоотводящей жидкости по камере и осторожно поместите гель в камеру агарозой вверх, совместите отверстия в геле с штырьками на камере и избегайте образование пузырьков под гелем.

4. Промокните поверхность геля блоттером C, выбросьте блоттер.

5. я) SAS-1 пользователи: прикрепите электроды на внешнюю сторону электрододержателя, так чтобы они находились в контакте с блоками геля.



Тел. +44 (0)191 482 8440
Факс +44 (0)191 482 8442
Эл. почта info@helena-biosciences.com

www.helena-biosciences.com

Helena Biosciences Europe Queensway South,
Team Valley Trading Estate, Gateshead,
Tyne and Wear, NE11 0SD, United Kingdom

II), SAS-1 Plus пользователи: (см. выше). Установите крышку на гель и электроды, крепко на 5 секунд прижмите ее чтобы обеспечить контакт.

III), SAS-3 пользователи: прикрепите электроды на внешнюю сторону электрододержателя, так чтобы они находились в контакте с блоками геля.

6. Установите 1 аппликатор в верхнем положении на анализаторе, (SAS-3 пользователи: слот 8).

7. Выполните электрофорез LD:

i) SAS-1 пользователи: 100 вольт, 13 минут, 5 нанесений

II), SAS-1 Plus пользователи: Электрофорез: 80 вольт, 20 мин, 15 ° C, 5 нанесений
 инкубационный Шаг 1: 25 минут, 45 ° C

III), SAS-3 пользователи:

Step	Time (mm:ss)	Temperature (°C)	Voltage	Other
Electrophoresis				
Load Sample	00:10	21		Speed 1
Apply Sample	00:10	21		Speed 1+
Repeat steps 'load sample, apply sample' for a total of 6 applications.				
Electrophoresis	15:00	20	100	

* используется позиция 1

8. SAS-1 и SAS-3 пользователи: Хотя образцы электрофореза, места ткани смоченной воды в камере инкубации и место в инкубаторе установлена на уровне 45 ° C, чтобы уравновесить.

9. Примерно за 3-4 минут до окончания электрофореза, разведите 1 флакон изофермента ЛДГ реагента путем добавления 1 мл раствора для разведения изофермента и хорошо перемешайте. Не трясите.

10. После электрофореза SAS-1 и SAS-3 пользователи: поместите гель агарозы стороной вверх в инкубатор.

11. Вылейте содержимое флакона ЛДГ реагента на середину геля.

12. Хорошо распределите реагент по гелю, избегая пузырьков воздуха. SAS-1 и SAS-3 пользователи: Инкубировать гель: 25 минут, 45 ° C.

13. После инкубации (SAS-1 Plus: удалить пленку), также удалить блоки гелей с использованием специальной лопаточки.

14. Промойте гель в обесцвечивающем растворе в течение 2 минут.

15. Положите гель на плоскую поверхность и поместите на него блоттер В (смоченный в обесцвечивающем растворе), затем положите три сложенных бумажных полотенца. Сверху положите вес для иммуноблоттинга на 5 минут.

16. Промойте гель в обесцвечивающем растворе в течение 1 минуты.

17. Промойте гель в очищенной воде и высушите при температуре 60 ... 70 ° C.

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ

РЕЗУЛЬТАТОВ

Рекомендуется, чтобы любая оценка геля осуществлялась сопоставлением результатов с нормальными значениями, которые были бы определены для этого теста в каждой отдельной лаборатории. Сделанные гели должны храниться в темноте любое время. Качественная оценка: набор для определения изоферментов ЛДГ может быть оценен



Тел. +44 (0)191 482 8440
 Факс +44 (0)191 482 8442
 Эл. почта info@helena-biosciences.com

www.helena-biosciences.com

Helena Biosciences Europe Queensway South,
 Team Valley Trading Estate, Gateshead,
 Tyne and Wear, NE11 0SD, United Kingdom

визуально на наличие или отсутствие тех или иных фракций. Количественная оценка: отсканируйте гели при 595nm, в течение 2 часов после проведения анализа. Сделанные гели должны храниться в темноте любое время.

После проведения электрофореза, как правило, можно увидеть 5 фракций ЛДГ. Быстрые фракции (LD1) мигрируют в геле аналогично альфа-глобулинам, а медленные фракции (LD5) мигрируют аналогично гамма-глобулинам. Другие три зоны обладают промежуточной подвижностью. Активность ЛДГ в сыворотке крови отражает распад многих типов клеток, и все пять зон могут быть видны. LD2 преобладает, затем LD1 и LD3. LD4 и LD5 встречаются в незначительном количестве.

1. LD2 – это изофермент ЛДГ, который находится в нормальной сыворотке в наибольшем количестве^{1-4,12}.

2. LD1 повышается и может быть больше, чем LD2 при следующих состояниях:
 а) инфаркт миокарда^{1-4,12}.

б) мышечная дистрофия Дюшенна, которая представляет собой клиническую картину подобную ИМ, но помочь гораздо легче, если провести дифференцировку заболевания^{19,20}.

с) Гемолиз (в том числе гемолитическая анемия), может быть решающим фактором, когда активность изоферментов ЛДГ сыворотки крови достигает уровня выше 5-ти норм и когда, в основном увеличивается LD1 и LD2 фракции. Общий уровень ЛДГ гораздо выше при гемолитической анемии, чем при ИМ, если сопровождается тяжелым шоком. Рецидивы злокачественной анемии дают такую же картину ЛДГ, как гемолиз и показывают один из самых высоких уровней общей активности ЛДГ в сыворотке в таком состоянии^{2,14}.

г) Инфаркт почки^{2,12}.

3. LD3 увеличивается при инфаркте легких^{7,12,21}.

4. Увеличение изофермента LD4 не было связано с какой-либо патологией.

5. LD5 увеличивается при патологии печени и мышечных повреждениях, а также при заболеваниях кожи¹.

6. Когда общее значение уровня ЛДГ значительно увеличено, но все изоферменты распределены нормально, то имеют нормальные проценты, то такое состояние называют изоморфной картиной. Изучение различных групп клинических диагнозов, показали, что эта картина может наблюдаться при кардиореспираторном заболевании, злокачественных опухолях, переломах, болезни центральной нервной системы, инфекции и воспалении, циррозе печени, алкоголизме, травме без перелома, инфекционном мононуклеозе, гипотиреозе, уремии, некрозе, псевдомононуклеозе, вирусемии и непроходимости кишечника^{1,2,22}.

7. Изоферменты ЛДГ и СК менее специфичны для операций на открытом сердце, чем они есть в большинстве диагностических ситуаций. СК-МВ будет повышена в связи с поражением миокарда при оперативном вмешательстве и травме в результате манипуляций и катетеризации сердца. LD2/LD1 может быть повышена вторичной по отношению к гемолизу связанном с искусственным кровообращением²²⁻²⁴.

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

СК/Контроль (кат. № 5134) может быть использован для проверки на всех этапах процедуры и должен быть использован на каждом геле. Обратитесь к листку-вкладышу для оценки полученных значений.



Тел. +44 (0)191 482 8440
 Факс +44 (0)191 482 8442
 Эл. почта info@helenabiosciences.com
www.helena-biosciences.com

Helena Biosciences Europe Queensway South,
 Team Valley Trading Estate, Gateshead,
 Tyne and Wear, NE11 0SD, United Kingdom

ОГРАНИЧЕНИЯ

Тест-система изоферменты ЛДГ Vis-12 SAS-1 не предназначена для выявления опухолевых маркеров.

НЕОБХОДИМЫ ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЕ ИСПЫТАНИЯ:

1. Должна быть определена общая активность ЛДГ. Существуют противоречивые сообщения об истинном значении общего уровня ферментов в сыворотки крови и степени тяжести заболевания^{1,4,25}.
2. В диагностике ИМ, необходимо выполнять анализ изоферментов СК^{1,4}.
3. Исследования гаптоглобина могут быть выполнены, чтобы исключить гемолиз, как одну из причин повышения LD1 и LD2.

РЕФЕРЕНСНЫЕ ЗНАЧЕНИЯ

Приведенные ниже нормальные значения были получены в исследованиях проведенных компанией Helena. Эти значения могут служить лишь в качестве ориентира. Каждая лаборатория должна устанавливать свои собственные ожидаемые нормальные значения для данного метода.

LD1 = 20,6 - 32,0%

LD2 = 31,1 - 35,9%

LD3 = 19,8 - 25,7%

LD4 = 7,0 - 10,4%

LD5 = 6,5 - 14,0%

ТЕХНИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Линейность.

Эта система является линейной до 650 МЕ/л в группе или общей активности ЛДГ 1300 МЕ/л

ЛИТЕРАТУРА

1. Brish, L.K. 'CK & LD Isoenzymes A Self-Instructional Text', Am. Soc. of Clin. Path. Press, Chicago, 1984: 85-120.
2. Hadden, D.M. and Prentiss, T., 'Cardiac Profiling by Electrophoresis', Lab. Mgt., 1977; May: 19-24.
3. Henry, J.D. 'Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods', 16th Edition, 1979; 1: 366-369, W.B. Saunders Co., Philadelphia.
4. Galen, R.S., Reiffel, J.A. and Gambino, S.R., 'Diagnosis of Acute Myocardial Infarction', J. Am. Med. Assoc., 1975; 232(2): 145-147.
5. Frolich, J., Brosseuk, A., Grant, A. and McLennan, M., 'Study of the Value of CPK and LDH Isoenzyme Determinations in the Differential Diagnosis of Ischemic Chest Pain', Clin. Biochem., 1978; 11(6): 232-234.
6. Wagner, G.S., Roe, C.R., Limbird, L.E., Rosati, R.A. and Wallace, A.G., 'The Importance of Identification of the Myocardial-Specific Isoenzyme of Creatine Phosphokinase (MB Form) in the Diagnosis of Acute Myocardial Infarction', Circulation, 1973; 47: 263-269.
7. Nerenberg, S.T., 'Electrophoretic Screening Procedures', 1973: 96-125, Lea & Febiger, Philadelphia.
8. Preston, J.A., Briere, R.O. and Batsakis, J.G., 'Rapid Electrophoretic Separation of Lactate Dehydrogenase Isoenzymes on Cellulose Acetate', Am. J. Clin. Pathol., 1965; 43(3): 256-260.
9. Hsu, M-Y., Kohler, M.M., Barolia, L. and Bondar, R.J.L., 'Separation of Five Isoenzymes of Serum Lactate Dehydrogenase by Discontinuous Gradient Elution from a Miniature Ion-Exchange Column', Clin. Chem., 1979; 25(8): 1453-1458.
10. Usategui-Gomez, M., Wicks, R.W. and Warshaw, M., 'Immunochemical Determination of the Heart Isoenzyme of Lactate Dehydrogenase(LDH1) in Human Serum', Clin. Chem., 1979; 25(5): 729-734.
11. Rotenberg, Z., Weinberger, I., Sagie, A., Fuchs, J., Sperling, O. and Agmon, J., 'Lactate Dehydrogenase Isoenzymes in Serum During Recent Acute Myocardial Infarction', Clin. Chem., 1987; 33(8): 1419-1420.
12. Tietz, N.W. et al., 'Textbook of Clinical Chemistry', 1986: 691-700, W.B. Saunders Co., Philadelphia.

13. Rothwell, D.J., Jendrzczak, B., Becker, M. and Doumas, B.T., 'Lactate Dehydrogenase Activities in Serum and Plasma', *Clin. Chem.*, 1976; 22(7): 1024-1026.
14. Latner, A.L. and Skillen, A.W., 'Isoenzymes in Biology and Medicine', 1968: 146-157, Academic Press, London.
15. Kreutzer, H.H. and Fennis, W.H.S., 'Lactic Dehydrogenase Isoenzymes in Blood Serum after Storage at Different Temperatures', *Clin. Chim. Acta*, 1964; 9: 64-68.
16. Galen, R.S., *Personal Communication*, Dec. 1981.
17. Clark, P.I., Kostuk, W.J. and Henderson, A.R., 'Time-Dependency of Human Lactate Dehydrogenase Isoenzyme 5 Inhibition by Urea', *Clin. Chem.*, 1976; 22(12): 2059.
18. Young, D.S., 'Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests', 3rd Ed., 1990, AACC Press, Washington D.C.
19. Roses, A.D., Roses, M.J., Nicholson, G.A. and Roe, C.R., 'Lactate Dehydrogenase Isoenzyme 5 in Detecting carriers of Duchenne Muscular Dystrophy', *Neurology*, 1977; 27(May): 414-421.
20. Yasmineh, W.G., Ibrahim, G.A., Abbasnezhad, M. and Awad, E.A., 'Isoenzyme Distribution of Creatine Kinase and lactate Dehydrogenase in Serum and Skeletal Muscle in Duchenne Muscular Dystrophy, Collagen Disease, and Other Muscular Disorders', *Clin. Chem.*, 1978; 24(11): 1985-1989.
21. Papadopoulos, N.M., 'Clinical Applications of Lactate Dehydrogenase Isoenzymes', *Annals of Clin. Lab. Sci.*, 1977; 7(6): 506-510.
22. Jacobs, D.S., Robinson, R.A., Clark, G.M. and Tucker, J.M., 'Clinical Significance of the Isomorphic Pattern of the Isoenzymes of Serum Lactate Dehydrogenase', *Annals of Clin. and Lab. Sci.*, 1977; 7(5): 411-421.
23. Galen, R.S., 'Diagnostic Tests in Cardiac and Non-Cardiac Disorders' *Diag. Med.*, 1978 Feb., 74-87.
24. Mohiuddin, S.M., Raffetto, J., Sketch, M.H., Lynch, J.D., Schultz, R.D. and Runco, V., 'LDH Isoenzymes and Myocardial Infarction in patients Undergoing Coronary Bypass Surgery: An Excellent Correlation', *Am. Heart J.*, 1976; 92(5): 584-588.
25. Chapelle, J-P., Albert, A., Smeets, J-P., Marechal, J-P., Heusghem, C. and Kulbertus, H.E., 'Does Lactate Dehydrogenase Isoenzyme-5 Contribute to the Predictive Power of Total Lactate Dehydrogenase in Myocardial Infarction?' *Clin. Chem.*, 1983; 29(5): 774-777.



Тел. +44 (0)191 482 8440
 Факс +44 (0)191 482 8442
 Эл. почта info@helena-biosciences.com
www.helena-biosciences.com

Helena Biosciences Europe Queensway South,
 Team Valley Trading Estate, Gateshead,
 Tyne and Wear, NE11 0SD, United Kingdom

Тест-система "Изоферменты щелочной фосфатазы" для приборов SAS-MX, SAS-1, SAS-3 (SAS-MX, SAS-1, SAS-3 "Alk Phos Kit")

Тест-система "Изоферменты щелочной фосфатазы-12" для прибора SAS-1 (SAS-1 Alkaline Phosphatase-12 Kit)

ПРИМЕНЕНИЕ

Тест-система предназначена для разделения и количественного определения изоферментов щелочной фосфатазы с помощью гель-электрофореза на агарозе.

Щелочная фосфатаза (ALP) (EC 3.1.3.1) является ферментом, который катализирует гидролиз фосфатных эфиров при щелочном значении pH. Наибольшие концентрации ALP находятся в печени, костях, кишечнике и плаценте. Тем не менее, практически во всех тканях тела содержится, по меньшей мере, небольшое количество ALP. В связи с широким распространением практическая значимость определения общего количественного ALP ограничена. К счастью, каждый источник ALP производит один доминирующий изофермент и ткань, которая является источником повышенной ALP в сыворотке крови, может быть определена путем определения типа изофермента.

Изоферменты ALP различаются по своим физико-химическим и электрофоретическим свойствам, воспользовавшись этими различиями, могут быть идентифицированы отдельные изоферменты¹. В дополнение к печеночной (в том числе макропеченочная фракция, или "быстрая печень"), костной, желудочно-кишечной и плацентарной фракции изоферментов, другие изоферменты ALP были выявлены в сыворотке крови. К ним относятся Риган, Нагао, ПА и почечные изоферменты.

ALP на SAS-3 - процедура электрофореза с высоким разрешением, определение основано на различиях в ответе на изоферменты нейраминидазы 2, 3 и детергентах применяемых в геле для отдельных печени и макропеченочной фракции (быстрой печени). В результате разделения, происходит отделение печеночной, костной, макропеченочной и кишечной фракций изоферментов ALP, что может быть использовано в диагностике и лечении печени, костей, паращитовидной железы и расстройствах кишечника. Эта система может разделить кишечные изоферменты на три отдельные полосы, клиническое значение которых пока не определено.

БЕЗОПАСНОСТЬ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Все реагенты предназначен ТОЛЬКО для in vitro диагностики. Не глотать и не пипетировать ртом не один из компонентов набора.

Надевайте перчатки при работе с набором реагентов.

СОСТАВ

1. Гели, изоферменты ALP для SAS-3

Состоит из агарозы с добавлением Трис/барбитал буфера, азида натрия и тиомерсала в качестве консервантов. Гель готов к использованию в упакованном виде.

2. Изоферменты ALP для SAS-3 разделение Enhancer

Состоит из нейраминидазы холерных вибрионов. Разделение Enhancer готово к работе в упакованном виде.



Тел. +44 (0)191 482 8440
 Факс +44 (0)191 482 8442
 Эл. почта info@helena-biosciences.com
www.helena-biosciences.com

Helena Biosciences Europe Queensway South,
 Team Valley Trading Estate, Gateshead,
 Tyne and Wear, NE11 0SD, United Kingdom

3. Изоферменты ALP для SAS-3, субстрат

Содержит BCIP (5-Bromo-4-хлор-3-индолил фосфат) в буфере 2-амино-2-метил-1,3-пропандиола. Субстрат готов к использованию в упакованном виде.

4. Изоферменты ALP для SAS-3, хромоген

Содержит NBT (нитросиний тетразолия) порошок. См. пошаговое руководство.

5. Другие компоненты набора

Каждый комплект содержит инструкции по эксплуатации и достаточное количество блоттеров C для анализа на 10 гелей.

ХРАНЕНИЕ И СРОК ГОДНОСТИ

1. Гели, изоферменты ALP для SAS-3

Гели должны храниться при температуре 15 ... 30 ° C и стабильны до срока годности, указанного на упаковке. НЕ хранить в холодильнике и не замораживать. Ухудшение геля можно выявить по следующим признакам 1) появление кристаллов, указывает на то, что гель был заморожен, 2) трещины и шелушения указывают на то, что гель высох и 3) видимые загрязнения агарозы - бактериальной или грибковой природы.

2. Изоферменты ALP для SAS-3 разделение Enhancer

Усилитель разделения должен храниться при 2 ... 6 ° C, устойчив до истечения срока, указанного на этикетке.

3. Изоферменты ALP для SAS-3, субстрат

Субстрат должен храниться при температуре +2 ... +6 ° C, в этих условиях он устойчив до истечения срока годности, указанного на этикетке. Избегать контаминации раствора субстрата.

4. Изоферменты ALP для SAS-3, хромоген

Флаконы с хромогенным раствором должны храниться при температуре 2 ... 6 ° C и стабильны до истечения срока годности, указанного на этикетке.

МАТЕРИАЛЫ НЕОБХОДИМЫЕ, НО НЕ ПОСТАВЛЯЕМЫЕ

Cat. № 310200 аппликаторы (1 x 10)

Cat. № 310300 аппликаторы (5 x 10)

Cat. № 210100 одноразовых ячейки для образцов (100)

Cat. № 3386 SAS-3 распределитель реагентов

Cat. № 3100 теплоотводящая жидкость

Дистиллированная вода

ОБЕСЦВЕЧИВАЮЩИЙ РАСТВОР: смешайте 400 мл ледяной уксусной кислоты и 7600ml очищенной воды. Хранить в плотно закрытой бутылке.

Вортекс.

ПРОБОПОДГОТОВКА

Свежесобранные образцы сыворотки. Сыворотка должна быть отмыта от эритроцитов как можно скорее после взятия крови. Образцы собранные в пробирку с консервантом: оксалатом, цитратом или ЭДТА не могут быть использованы, так как эти вещества препятствуют определению активности щелочной фосфатазы⁴. Общий уровень ALP должен быть определен соответствующим образом. Пациенты должны быть на диете.



Тел. +44 (0)191 482 8440
 Факс +44 (0)191 482 8442
 Эл. почта info@helenahelena-biosciences.com
www.helenahelena-biosciences.com

Helena Biosciences Europe Queensway South,
 Team Valley Trading Estate, Gateshead,
 Tyne and Wear, NE11 0SD, United Kingdom

Пациенты с группой крови О или В могут иметь повышенную кишечную фракцию ALP в течении 2 часов после жирной еды 4-6.

Рекомендуется, чтобы сыворотка использовалась как можно скорее после сбора и храниться сыворотка должна при температуре +2 ... +6 ° C. В случае необходимости сыворотку крови следует хранить в замороженном виде при температуре -20 ° C не более чем 24 часа 7,8.

ИНТЕРФЕРЕНЦИЯ:

- 1) фосфаты, оксалаты, цитраты и цианиды могут препятствовать определению активности ALP 4, 8.
- 2) Избыток глицина может препятствовать определению ALP из-за комплексообразования с ионами магния.
- 3) ЭДТА может ингибировать некоторые изоэнзимы ALP 4.
- 4) Некоторые препараты вызывают ферментативный дисбаланс, который может повлиять на уровень ALP 9.

Образцы с высокой суммарной активности ALP можно разбавлять, если высокая активность влияет на способность различать типы изоферментов. Разведения не должны быть выполнены в физиологическом растворе или водой, так как будет затронута миграция изоферментов. Разведения должны быть выполнены в сыворотке крови от мужчины-донора, который был термически обработан (56 ° C в течение 15-20 минут), чтобы уничтожить эндогенную активность ALP. Пригодности сыворотки для использования в качестве растворителя должна быть проверена перед использованием.

ПОШАГОВАЯ ИНСТРУКЦИЯ

1. Ниже представлено программирование параметров анализатора (SAS3)

Step	Time (mm:ss)	Temperature (°C)	Voltage	Other
Electrophoresis				
Load Sample	00:30	21		Speed 6
Apply Sample	01:00	21		Speed 6*
Repeat 'Load Sample, Apply Sample' for a total of 4 applications.				
Electrophoresis	30:00	10	500	
Apply Reagent		21		8 cycles
Incubate	35:00	45		
Dry	03:00	54		

- использование места для 1 SPIFE 3000 и SAS-3

Примечание: Для SPIFE 3000 / SAS-3 пользователей: шаг "Применить реагента" должен быть запрограммирован.

оперативное Пресс-клавишу, чтобы продолжить ", так что реагент флаконе может быть помещен в центр положение реагент, после растворения.



Тел. +44 (0)191 482 8440
Факс +44 (0)191 482 8442
Эл. почта info@helena-biosciences.com
www.helena-biosciences.com

Helena Biosciences Europe Queensway South,
Team Valley Trading Estate, Gateshead,
Tyne and Wear, NE11 0SD, United Kingdom

Step	Time (mm:ss)	Temperature (°C)	Voltage	Other
Stainer				
Destain	05:00			Recirculate OFF
Destain	05:00			Recirculate OFF
Dry	17:00	63		

2. Установите аппликаторы в соответствующие позиции:

	Applicator Position
SPIFE Combo	9
SPIFE 2000/3000/SAS-3	8

3. Для каждого образца или контроля 30 μ L добавить реагента для разделения ALP Enhancer - 10 μ L и хорошо перемешать. Инкубируйте при 15 ... 30 °C в течение 10 минут перед использованием.

4. i) для SPIFE Combo пользователей: отберите 20 μ L образца. Закройте образцы от испарения.

II) для SPIFE 2000 / 3000 / SAS-3 пользователей: Отберите 35 μ L образца в соответствующие чашки образца. Закройте образцы от испарения.

5. Удалите гель из упаковки, снимите защитную пленку.

6. Распределите 2 мл теплоотводящей жидкости на левой стороне камеры и осторожно поместите гель в камеру, совмещая отверстия в геле с штырьками на камере и избегайте образование пузырьков под гелем. Прикрепите электрод на внешнюю сторону электрододержателя, так чтобы он находился в контакте с гелем блоков (SPIFE 3000 / SAS-3 пользователей:) и распределителем реагентов с внутренней стороны электрода.

7. Промокните поверхность геля с блоттером C, не накрывайте крышкой.

8. Выберите программу тест щелочная фосфатаза и, следуя подсказкам, делайте образцы, выполните электрофорез и инкубирование геля с реагентами.

9. Примерно за 10 минут до окончания электрофореза, разведите 1 флакон ALP изофермента Хромогена с 3.0ml ALP субстратом. Перемешайте на вортексе и дайте постоять в течение 2 минут до использования.

10. После электрофореза:

i) SPIFE Combo / 2000 пользователей: Залить содержимое флакона ALP вдоль одного края геля.

Использование распределителя реагентов, по поверхности геля распределите реагент два раза, туда и обратно, чтобы обеспечить равномерное покрытие.

II) SPIFE 3000 / SAS-3 пользователи: установите флакон в центр слота реагента и нажмите любую клавишу для продолжения.

11. После инкубации удалите электрод и удалите гель и блоки с использованием соответствующей лопаточки.

12. Прикрепите гель в держатель для окрашивания лицом вперед.

13. Выберите тест щелочную фосфатазу из меню программы, и, следуя подсказкам, обесцветте и высушите гель.

14. В конце цикла окрашивания, удалите гель из камеры. Гель готов к рассмотрению.



Тел. +44 (0)191 482 8440
Факс +44 (0)191 482 8442
Эл. почта info@helena-biosciences.com
www.helena-biosciences.com

Helena Biosciences Europe Queensway South,
Team Valley Trading Estate, Gateshead,
Tyne and Wear, NE11 0SD, United Kingdom

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Интерпретацию изоферментов ALP не следует делать без знания общего уровня ALP в сыворотке крови пациента.

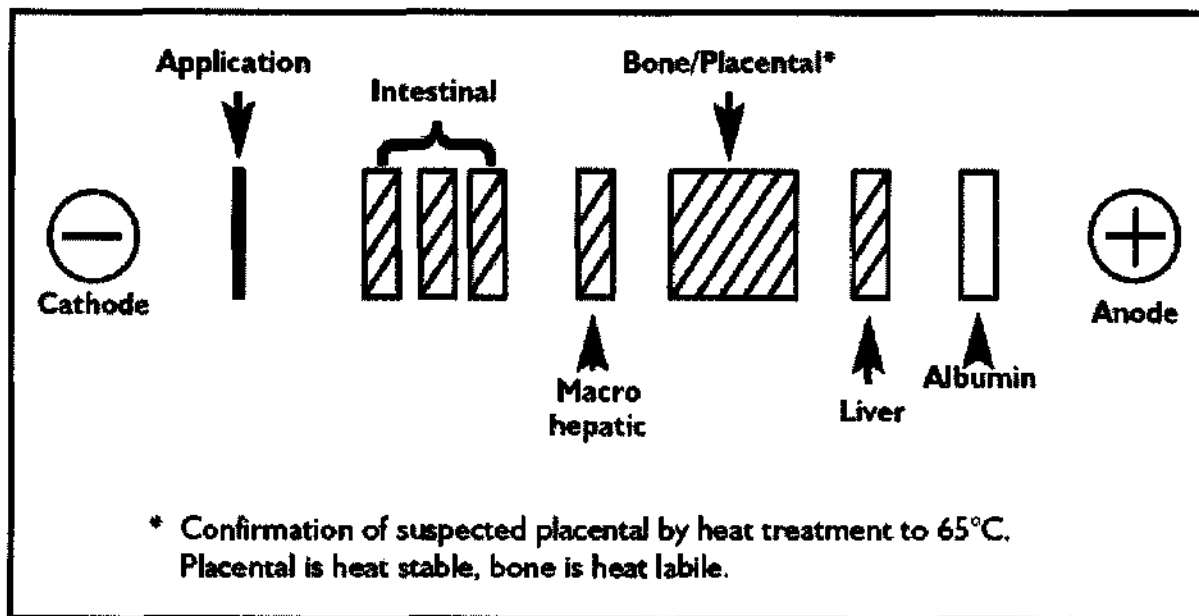
Сыворотка нормальных людей может содержать небольшое количество печеночной, костной и кишечной фракций ALP 6,10,11.

Уровень ALP зависит от пола и возраста 8,12,13.

Беременные женщины могут показывать плацентарных группы. Макропеченочная фракция (быстрая печень), появляется в группе с новообразованиями и ее следует интерпритировать, как предупреждение заболевания, независимо от общего уровня ALP.

Исполнение редких Нагао, Регана и РА изоферментов с этой системой не известно на данный момент. Аномальные полосы были зарегистрированы у пациентов с нормальным уровнем общей ALP.

На рисунке 1 показано схематическое изображение миграции основных изоферментных фракций ALP.



Печеночная группа мигрирует ближе к аноду. Группа пациентов с высокой общей активностью ALP печеночная фракция будет мигрировать ближе к аноду, чем пациенты с нормальным уровнем. Печеночная фракция является ферментом, чаще всего повышается при уровне общего значения ALP ^{6,10}. ALP печени увеличивается в начале заболевания печени, прежде чем большинство других функциональных проб печени показывают отклонения от нормы. Широкий круг условий, ведущих к увеличению печеночной фракции ALP включая острый гепатит, цирроз печени, жировую дистрофию печени, болезнь печени вызванная ЛП, непроходимость желчных потоков при раке головки поджелудочной железы, первичный билиарный цирроз и метастатического рак печени ⁸.

Рядом с печеночной фракцией выходит катодная фракция - это костная группа. В образцах с высоким содержанием активности костной фракции изофермента, костная группа работает медленнее, чем у нормальных пациентов. Костная группа часто имеет



Тел. +44 (0)191 482 8440
Факс +44 (0)191 482 8442
Эл. почта info@helena-biosciences.com
www.helena-biosciences.com

Helena Biosciences Europe Queensway South,
Team Valley Trading Estate, Gateshead,
Tyne and Wear, NE11 0SD, United Kingdom

характерную квадратную форму, в отличие от более нормальной продолговатой формы электрофоретической полосы. Костная изоферментная фракция увеличивается, как результат возросшей активности остеобластов.

Это изофермента, как правило, повышается у растущих детей и взрослых в возрасте старше 50 лет. Высокие значения общей активности ALP были отнесены к увеличению костной фракции изофермента при болезни Педжета или почечной рахит¹⁴.

Аномально высокий уровень костной фракции изофермента может также служить признаком рака костей, остеомалиция или застоя в брюшине⁸. Снижение костной фракции ALP у детей может быть связано с кретинизм или гипопаратиреозом.

Появление полосы у катода до костной фракции - макропеченочная фракция (быстрый печени). Макропеченочная фракция ALP была выделена в случаях с метастатическим раком печени и была предложена в качестве диагностического инструмента для выявления таких случаев. Она также была выделена у больных с вирусным гепатитом, алкогольным циррозом и другими заболеваниями печени. Данные, полученные в Viot и associates¹⁵ предполагают, что макропеченочная фракция ALP в значительной мере связана с наличием метастазов в печени, и что присутствие этого изофермента позволяет прогнозировать появление метастазов в печени. Viot также сообщает, что макропеченочная фракция ALP проявляется, иногда у больных без каких-либо заболеваний¹⁵.

Кишечная группа изофермента ALP появляется у катода рядом с макропеченочной фракцией. Появление до трех полос очень часто возможно в образцах, взятых у пациентов не находящихся на диете.

1. Качественная оценка: гели могут быть визуально осмотрены на наличие или отсутствие каких-либо конкретных полос.

2. Количественная оценка: Сканирование геля SPIFE ALP изофермента (гелевой стороной вниз) в течение 2 часов после завершения при 595nm и щели размером 5.

В любом случае, увеличение или уменьшение отдельных компонентов сыворотки или выявления необычных компонентов сыворотки требует расследования. Завершение SAS-3 ALP изофермента гель следует хранить в темноте, чтобы предотвратить повышенный фон окраски.

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Контроль изоферментов щелочной фосфатазы (кат. № 3059) содержит нормальный уровень печеночной и костной фракции и может быть использован для проверки на всех этапах процедуры и должен быть использованы на каждом геле. Для оценки значений, обратитесь к листу-вкладышу.

ОГРАНИЧЕНИЯ

Определение изоферментов ALP, таких как Риган, Нагао и ПА может потребовать использования дополнительных протоколов испытаний, таких, как тепловая инактивация¹⁶, ингибирование аминокислот¹⁷⁻¹⁹, денатурация мочевины, 18 или разделения на полиакриламидном геле^{20, 21}.

Чувствительность



Тел. +44 (0)191 482 8440
Факс +44 (0)191 482 8442
Эл. почта info@helena-biosciences.com
www.helena-biosciences.com

Helena Biosciences Europe Queensway South,
Team Valley Trading Estate, Gateshead,
Tyne and Wear, NE11 0SD, United Kingdom

Метод чувствителен от 8 U/L для каждого диапазона, определяется как низкая концентрация изофермента ALP которая проявляется как дискретная группа по завершению разгонки геля.

Линейность

Линейность метода является функцией денситометра и приведена в спецификации, а также зависит от производительности геля.

Рекомендуется, чтобы каждый клиент определил линейность метода, основанную на денситометре, используемого в его лаборатории.

Эталонные значения

Рекомендуется, чтобы любая оценка геля осуществлялась исходя от нормальных значений, которые были изготовлены для этого теста в каждой отдельной лаборатории.

ТЕХНИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Воспроизводимость

	Within-Run (n=20)		Between-Run (n=60)	
	Mean	CV (%)	Mean	CV (%)
Liver	61.2%	1.0	61.5%	6.5
Macrohepatic	38.8%	1.6	38.5%	2.2

ЛИТЕРАТУРА

1. Fishman, W.H. *Am. J. Med.*, 1974; 56 : 617-650.
2. Moss, D.W. and Edwards, R.K. *Clin. Chim. Acta*, 1984; 143 : 177-182.
3. Moss, D.W. et al. *Biochem. J.*, 1966; 98 : 32C-33C.
4. Young, D.S. et al., 'Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests', 3rd Ed., AACCC Press, Washington D.C., 1990.
5. Sundblad, L. et al *Clin. Chim. Acta*, 1973; 45 : 219-223.
6. Rhone, D.P. et al., *Clin. Chem.*, 1973; 19(10) : 1142-1147.
7. Massion, C.G. and Frankenfeld, J.K., *Clin. Chem.*, 1972; 18(4) : 366-373.
8. Wolf, P.L., *Arch. Pathol. Lab. Med.*, 1978; 102 : 497-501.
9. Ahmad, I., *Clin. Chem.*, 1978; 24(10) : 1850-1851.
10. Fritsche, H.A. and Adams-Park, H.R., *Clin. Chem.*, 1972; 18(5) : 417-421.
11. Lee, L.M. and Kenny, M.A., *Clin. Chem.*, 1975; 21(8) : 1128-1135.
12. Eastman, J.R. and Bixler, D., *Clin. Chem.*, 1977; 23(9) : 1769-1770.
13. Cherian, A.G. and Hill, J.G., *Am. J. Clin. Pathol.*, 1978; 70(5) : 783-789.
14. Nerenburg, S.T. 'Medical Technology', Lea and Febiger Inc., Philadelphia, 122-123, 1973.
15. Viot, M. et al., *Biomedicine*, 1979; 31 : 74-77.
16. Posen, S. et al., *Ann. Int. Med.*, 1965; 62(6) : 1234-1243.
17. Stepan, J. and Vecerek, B., *Acta Univ. Carol.*, 1977; Mono 77 : 135-140.
18. O'Carroll, D. et al., *Am. J. Clin. Pathol.*, 1975; 63 : 564-572.
19. Rhone, D.P. and Mizuno, F.M., *Am. J. Clin. Pathol.*, 1973; 59 : 531-541.
20. Johnson, R.B. et al., *Clin. Chem.*, 1972; 18(2) : 110-115.
21. Rosalki, S.B. and Foo, A.Y., *Clin. Chem.*, 1985; 31(7) : 1198-2000.



Tel. +44 (0)191 482 8440
 Факс +44 (0)191 482 8442
 Эл. почта info@helena-biosciences.com
www.helena-biosciences.com

Helena Biosciences Europe Queensway South,
 Team Valley Trading Estate, Gateshead,
 Tyne and Wear, NE11 0SD, United Kingdom

Тест-система "Изоформы гемоглобина, изоэлектрофокусирование" для приборов SAS-MX, SAS-1, SAS-3 (SAS-MX, SAS-1, SAS-3 "Hb-IEF").

НАЗНАЧЕНИЕ

Тест-система предназначена для разделения гемоглобинов человека методом электрофореза в агарозном геле.

Гемоглобины (Hb) представляют собой группу белков, основной функцией которых является транспортировка кислорода из легких к тканям, а углекислого газа – в обратном направлении. Они состоят из полипептидных цепей, называемых глобинами, и групп ферропротопорфирина (гемов). Специфическая последовательность аминокислот образует каждую из четырех полипептидных цепей. Каждая нормальная молекула гемоглобина состоит из одной пары альфа и одной пары отличных от альфа цепей. В гемоглобине здорового взрослого человека, HbA, цепи, отличные от альфа, именуются бета. Цепи фетального гемоглобина, отличные от альфа, именуются гамма. Незначительная (3%) фракция гемоглобина, именуемая HbA₂, содержит альфа и дельта цепи. Две другие цепи формируются в эмбрионе.

Основную часть гемоглобина в эритроцитах здорового взрослого человека составляет HbA наряду с небольшими количествами HbA₂ и HbF. Кроме того, в настоящее время известны более 400 мутаций гемоглобинов, некоторые из которых могут оказывать серьезное клиническое воздействие, особенно в гомозиготном состоянии или в комбинации с другим аномальным гемоглобином. Уинтроб¹ (Wintrobe) подразделяет аномалии синтеза гемоглобина на три группы.

1. Производство аномальной молекулы белка (например, серповидноклеточная анемия).
2. Снижение объема синтеза нормального белка (например, талассемия).
3. Аномалии развития (например, наследственная персистенция фетального гемоглобина (HbF)).

Наиболее часто встречаются две мутации молекулы гемоглобина, HbS и HbC. Менее часто встречаются Hb Lepore, HbE, HbG-Philadelphia, HbD-Los Angeles, HbO-Arab.²

Hb-IEF 10 – это простая процедура, которая требует незначительного количества гемолизата для получения дополнительных доказательств присутствия HbS, Hb и HbF, а также несколько других аномальных гемоглобинов.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Все реагенты предназначены только для диагностического использования в условиях *in-vitro*. Не глотать и не пипетировать ртом ни один компонент набора. Надевать перчатки при работе со всеми компонентами набора. См. паспорт безопасности химического вещества, положения о рисках и обеспечении безопасности, а также информацию об утилизации.

СОСТАВ

1. Гель Alkaline Hb

Содержит агарозу и сепараторы, pH 6-8 с азидом натрия и тиомерсалом в качестве консерванта. Гель упакован и готов к употреблению.

2. Hb-IEF анодный раствор.

Содержит 0.3М уксусной кислоты. Раствор готов к употреблению.

3. Hb-IEF катодный раствор.



Тел. +44 (0)191 482 8440
Факс +44 (0)191 482 8442
Эл. почта info@helena-biosciences.com
www.helena-biosciences.com

Helena Biosciences Europe Queensway South,
Team Valley Trading Estate, Gateshead,
Tyne and Wear, NE11 0SD, United Kingdom

Содержит 1М NaOH. Раствор готов к употреблению.

4. Фиолетово кислый краситель

Содержит порошок Фиолетово кислого красителя. Довести содержимое бутылки до 1000 мл с использованием очищенной воды. Перемешать, отфильтровать перед использованием. Хранить в бутылки с плотно закрывающейся крышкой.

5. Hb-IEF Лизирующий агент

Содержит сапонины в очищенной воде с цианидом калия и тиомерсалом в качестве консерванта. Лизирующий агент готов к употреблению.

6. Другие компоненты набора

Каждый набор содержит инструкцию по применению и достаточное количество для выполнения 10 гелей: адаптеров для нанесения проб (Template 2 = 10 x 8 проб, Template 4 = 10 x 10 проб), блоттеров А, В, С и D, электродных бумажных полосок, полосок блоттера и фильтровальных полосок.

УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И СРОК ГОДНОСТИ

1. Гель SAS-1 Alkaline Hb

Гель следует хранить при температуре 15-30°C, в этом случае гели сохраняют стабильность до окончания срока годности, указанного на упаковке. НЕ ОХЛАЖДАТЬ И НЕ ЗАМОРАЖИВАТЬ. Испорченный гель можно определить по следующим признакам: 1) кристаллический внешний вид, который указывает на то, что гель был заморожен; 2) ломкость и отслаивание, свидетельствующие о высыхании геля; 3) видимое загрязнение агарозы бактериальными или грибковыми источниками.

2. Hb-IEF анодный раствор.

Раствор должен храниться при температуре 15 ... 30 ° C, устойчив до истечения срока годности, указанного на этикетке.

Мутность или частицы загрязнения указывают на ухудшение качества раствора.

3. Hb-IEF катодный раствор.

Раствор должен храниться при температуре 15 ... 30 ° C, устойчив до истечения срока годности, указанного на этикетке.

Мутность или частицы загрязнения указывают на ухудшение качества раствора.

4. Краситель Фиолетово-кислый

Концентрат красителя следует хранить при температуре 15-30°C, в этом случае он сохраняет стабильность до окончания срока годности, указанного на ярлыке. Раствор красителя стабилен в течение 6 месяцев при температуре 15-30°C. Рекомендуется незамедлительно утилизировать использованный краситель в целях предотвращения снижения окрашивающей способности. Низкая эффективность окрашивания может указывать на порчу раствора красителя.

5. Лизирующий агент для гемоглобина

Лизирующий агент следует хранить при температуре 15-30°C, в этом случае он сохраняет стабильность до окончания срока годности, указанного на ярлыке. О порче могут свидетельствовать инородные включения или помутнение.

НЕОБХОДИМЫЕ КОМПОНЕНТЫ, НЕ ВКЛЮЧЕННЫЕ В НАБОР

Cat. No. 4065 Камера SAS-MX изоэлектрофокусирование

Cat. No. 1525 EPS 600 Программируемый источник питания

Cat. No. 1349/1111 REP IEF/SPIFE IEF Electrode Assembly



Тел. +44 (0)191 482 8440
Факс +44 (0)191 482 8442
Эл. почта info@helena-biosciences.com
www.helena-biosciences.com

Helena Biosciences Europe Queensway South,
Team Valley Trading Estate, Gateshead,
Tyne and Wear, NE11 0SD, United Kingdom

Cat. No. 5014 Вес для проявления
Cat. No. 3039 Охлаждающие блоки для камеры изоэлектрофокусирования
Cat. No. 3100 REP Prep
Cat. No. 5331 AFSC Hemo Control
Cat. No. 5330 AFSA2 Hemo Control
Cat. No. 5329 ASA2 Hemo Control
Cat. No. 5328 AA2 Hemo Control

Сушильная печь с принудительным движением воздуха, нагрев до 60-70°C

Фиксирующий раствор: Смешайте 5% трихлоруксусную кислоту в 35% р-ре метанола.

Обесцвечивающий раствор: Смешайте 500 мл метанола и 500 мл дистиллированной воды.

Добавьте 100 мл ледяной уксусной кислоты. Хранить в закрытой крышкой бутылке.

Физиологический раствор (0,85% NaCl)

Очищенная вода

ОТБОР И ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦОВ

Предпочтение следует отдать свежесобранной в ЭДТА или антикоагулированной с использованием гепарина крови. Образцы допускается хранить в охлажденном виде при температуре 2-6°C сроком до 1 недели. Для достижения оптимальных результатов отмытые солевым раствором эритроциты следует использовать для приготовления лизатов. Таким образом, исключается возможная интерференция с белками плазмы.

а) Смешать 200µл хорошо перемешанной цельной крови со 1000 µл солевого раствора.

б) Центрифугировать в целях получения осадка эритроцитов.

в) Удалить 1000µл надосадочной жидкости и утилизировать ее.

г) Добавить еще 1000µл солевого раствора и хорошо перемешать.

д) Повторить шаги б-д 2 раза.

е) После последнего центрифугирования удалить 1000µл надосадочной жидкости и работать с оставшимся образцом как с цельной кровью, или удалить всю надосадочную жидкость и работать с оставшимся образцом как с отмытыми осажденными эритроцитами.

Разведите каждую пробу контроля/пациента до концентрации гемоглобина 2,0 - 4,0 g/dL гемоглобин лизирующим агентом Hb-IEF для не окрашиваемых гелей или до концентрации гемоглобина 1,0 - 2,0 g/dL для окрашиваемых гелей.

ПОШАГОВАЯ ПРОЦЕДУРА

1. Удалите гель из упаковки и положите на бумажное полотенце. На поверхность геля положите блотт С.

2. На гель, совмещая со стрелками, поместите шаблон для образцов (на 8 проб или 10 образца в зависимости от предпочтений). Положите блоттер А сверху на шаблон и протрите пальцем в местах нанесения образцов, чтобы обеспечить хороший контакт. Удалить блоттер и сохранить его для использования в шаге 5.

3. Нанесите 2µл образца в каждое отверстие шаблона и подождите пока произойдет абсорбция в течение 10-15 минут.

4. Хотя образцы абсорбируются, выдержите 1 фитиль электрода катода решения и блоттер почти сухой между двумя промокательную бумагу, фитиль. Позиция этот фитиль вдоль катода (-) край геле.

5. После абсорбции образца, блоттером А (сохраненным на шаге 2) промокните шаблон, и выбросьте блоттер и шаблон.



Тел. +44 (0)191 482 8440
Факс +44 (0)191 482 8442
Эл. почта info@helena-biosciences.com

www.helena-biosciences.com

Helena Biosciences Europe Queensway South,
Team Valley Trading Estate, Gateshead,
Tyne and Wear, NE11 0SD, United Kingdom

6. Намочите одну электродную полоску в анодном растворе и промокните ее почти досуха между двумя блоттерами.

Поместите эту электродную полоску по краю геля вдоль анода (+). Старайтесь не смешивать анодный и катодный растворы.

Примечание: Выполнение процедуры в соответствии с документом:

7A. Работа с набором REP:

I. Используйте набор REP IEF. Поместите 500µl из REP Prep на камеру. Поместите гель на камеру, поместите на гель анодную полоску под центральным анодным электродом набора REP IEF и катодную полоску под внешним катодным электродом. Катодные и анодные полоски промокните почти досуха между двумя блоттерами. Поместите их на гель.

II. Запрограммируйте следующие параметры в REP (оставив все другие разделы программы экран пустым):

Electrophoresis Voltage	800 volts
Electrophoresis Time	30:00 min:ss
Electrophoresis Temperature	10...20°C
Dry Time	10:00 min:ss
Dry Temperature	54°C
Standby Temperature	16°C

III. Авто-камеры, чтобы закрыть крышку и нажать клавишу F1, чтобы начать работать.

7B. Работа в SPIFE / SAS-3 приборах:

I. Использование SPIFE / SAS-3 МЭФ собраний электрода. Поместите гель, как описано в 7A (i).

II. Программа следующие параметры в SPIFE / SAS-3:

Electrophoresis	30:00 min:ss	10°C	800 volts
End of test			

III. Закройте крышкой камеры, нажмите СТАРТ и следуйте инструкциям, чтобы начать электрофорез.

7C. Работа на SAS-1 Plus:

I. Отберите 400µL из REP Prep на поверхность для электрофореза. Положите гель, агарозной стороной вверх, правильно совместите полюса, избегайте образование воздушных пузырьков под гелем

II. Прикрепите электроды на верхнюю сторону, чтобы они находились в контакте с буферными электродными полосками.

iii. Выполните Hb-IEF электрофорез:

Electrophoresis Voltage	600 volts
Electrophoresis Time	30:00 min:ss
Electrophoresis Temperature	15°C

7d. Работа на обычных IEF системах:

I. Следующие параметры должны быть использованы при использовании альтернативных ИП:

Power	10 watts
Voltage Limit	800 volts
Current Limit	50mA
Run Time	30:00 min:ss
Run Temperature	10...20°C



Тел. +44 (0)191 482 8440
Факс +44 (0)191 482 8442
Эл. почта info@helena-biosciences.com

www.helena-biosciences.com

Helena Biosciences Europe Queensway South,
Team Valley Trading Estate, Gateshead,
Tyne and Wear, NE11 0SD, United Kingdom

7e. Работа на Helena IEF камере для изоэлектрофокусирования:

i. Используйте следующие параметры:

Electrophoresis Voltage	400 volts
Electrophoresis Time	60 minutes

ii. Убедитесь, что в охлаждающие блоки камеры находились при температуре 2 ... 6 ° C, по крайней мере 30 минут перед использованием. Поместите их в центр камеры.

ПРИМЕЧАНИЕ: напряжения, время и температура выбраны для фокусировки, должны определяться каждой лабораторией согласно шаблону требуемой длины. Температура должна быть выбрана для сведения к минимуму образование конденсата на поверхности геля, которые могут привести к размытию структуры.

Избегайте перефокусировки геля, в качестве катода дрейфа градиента может привести к потере белков на катодной полоске, а также введение перерывов в градиента. При использовании камеры Helena IEF убедитесь, что охлаждающие блоки хранились перед использованием при 5 ° C.

8. После электрофореза, высушите гель при 60 ... 70 ° C

ПРИМЕЧАНИЕ: После фокусировки, не сушит гель.

9. Фиксация геля фиксирующим раствором в течение 15 минут.

10. Промыть обесцвечивающим раствором в течение 10 минут.

11. Поместите блоттер В (смоченным в обесцвечивающем растворе) на поверхность геля, а затем 3 блоттера D. Используйте пресс для геля в течении 15 минут.

12. Сухой гель.

13. Окуните сухой гель на 10 минут.

14. Промойте гель в очищенной воде в течение 5 минут.

15. Обесцветте гель в обесцвечивающем растворе до прояснения и высушите. Отсканируйте при 595nm.

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Качественная оценка:

Возможные отличительные черты типов гемоглобина, присутствующих в пробах, могут быть определены посредством визуальной оценки выполненного геля. Гематологические контроли представляют собой маркер для идентификации полос.

Количественная оценка: относительный процент каждого типа гемоглобина на геле может быть определен методом денситометрии сделанного геля при 595nm.

На рис. 1 приведены возможные полосы наиболее часто встречающихся типов гемоглобина.



Тел. +44 (0)191 482 8440
Факс +44 (0)191 482 8442
Эл. почта info@helena-biosciences.com
www.helena-biosciences.com

Helena Biosciences Europe Queensway South,
Team Valley Trading Estate, Gateshead,
Tyne and Wear, NE11 0SD, United Kingdom

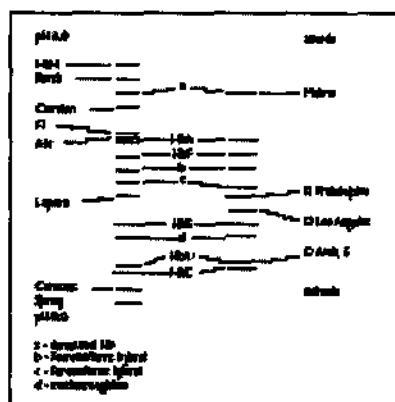


FIG. 1

Большинство вариаций гемоглобина не вызывают каких-либо очевидных клинических симптомов, поэтому они представляют интерес главным образом для ученых и исследователей. Вариации являются клинически значимыми, когда их присутствие обуславливает появление таких нарушений как выработка серповидных форм, синдромы талассемии, стойкий цианоз, гемолитические анемии или эритроцитоз, или если преобладание гетерозиготы таково, что обуславливает необходимость медико-генетического консультирования. Комбинации HbS-S, HbS-D-Los Angeles, HbS-O-Arab обуславливают серьезные нарушения, связанные с выработкой серповидных форм². Несколько вариаций, включая HbH, E-Fort Worth и Lepore, обуславливают талассемическую картину крови².

Две вариации гемоглобинов, характеризующихся наибольшей значимостью в плане частоты выявления и патологий, - это HbS и HbC². Серповидно-клеточная анемия (HbSS) является тяжелой и смертельной болезнью. Она впервые проявляет себя в возрасте 5-6 месяцев. Клиническое течение характеризуется мучительными эпизодами боли и повышения температуры с анемией, вялостью, летаргией и инфарктом практически всех органов тела. Человек с гомозиготной HbCC страдает умеренной гемолитической анемией, которую связывают с осаждением или кристаллизацией HbC в эритроцитах. Случаи заболевания HbSC характеризуются гемолитической анемией, которая протекает менее остро, чем серповидно-клеточная анемия.

Талассемии представляют собой группы гемоглобинопатий, характеризующихся гипохромией и микроцитозом вследствие снижения синтеза одной цепи глобинов (альфа или бета), в то время как синтез других цепей происходит нормально.^{9,10} Такой несбалансированный синтез приводит к нестабильности глобиновых цепей. Они осаждаются в эритроцитах, формируя инородные включения, которые сокращают жизненный цикл клеток. При альфа-талассемии сокращено количество или наблюдается отсутствие альфа-цепей, а при бета-талассемии вышесказанное касается бета-цепей. Другое количественное нарушение синтеза гемоглобина, наследственная персистенция фетального гемоглобина (HbFH), представляет собой генетическое нарушение работы механизмов, которые отключают синтез гамма-цепей в возрасте около 4-х месяцев от рождения, что приводит к постоянному высокому процентному содержанию HbF. В отличие от действительных талассемий это менее опасное состояние, и лица, гомозиготные к HbFH, развиваются нормально, асимптоматичны и не имеют анемии.¹⁰



Тел. +44 (0)191 482 8440
Факс +44 (0)191 482 8442
Эл. почта info@helena-biosciences.com
www.helena-biosciences.com

Helena Biosciences Europe Queensway South,
Team Valley Trading Estate, Gateshead,
Tyne and Wear, NE11 0SD, United Kingdom

Наиболее часто встречающиеся гемоглобинопатии:

1) Серповидно-клеточный признак

Это гетерозиготное состояние, характеризующееся HbA и HbS и нормальным количеством HbA2 на ацетатцеллюлозе. Результаты на цитратном агаре показывают гемоглобины в миграционных позициях (зонах) HbA и HbS.

2) Серповидно-клеточная анемия

Это гомозиготное состояние, характеризующееся практически исключительно HbS, при этом может присутствовать незначительное количество HbF.

3) Серповидная-С болезнь

Это гетерозиготное состояние, характеризующееся HbS и HbC.

4) Серповидно-клеточная болезнь – талассемия

Данное состояние характеризуется HbA, HbF, HbS и HbA2.

При серповидно-клеточной болезни β^0 -талассемии отсутствует HbA.

При серповидно-клеточной болезни β^+ -талассемии HbA присутствует в ограниченных количествах.

5) Болезнь талассемия-С

Данное состояние характеризуется HbA, HbF, HbC.

6) С-болезнь

Это гомозиготное состояние, демонстрирующее практически исключительно HbC.

7) Большая талассемия

Данное состояние характеризуется HbF, HbA и HbA2.

ОГРАНИЧЕНИЯ

Некоторые аномальные гемоглобины имеют сходную электрофоретическую подвижность, и их следует дифференцировать другими методами.

Дальнейшего тестирования требуют:

1. Анализ глобиновых цепей (как кислотных, так и щелочных), а также структурные исследования могут быть необходимы в целях положительной идентификации некоторых более редко встречающихся гемоглобинов.

2. Анионообменная колоночная хроматография является наиболее точным методом количественного определения HbA2. Рекомендуются метод Helena BioSciences Sickie-Thal Quick Column (Номер по каталогу 5334) для количественного определения HbA2 в присутствии HbS, рекомендуется использовать Helena BioSciences Beta-Thal HbA2 Quick Column (Номер по каталогу 5341). Количественное определение HbA2 является одним из наиболее важных диагностических тестов при диагностировании признака бета-талассемии.

3. Количественное определение низких уровней HbF (1-10%) можно с высокой степенью точности выполнить методом радиальной иммунодиффузии с использованием процедуры Helena BioSciences HbF-QuipPlate (Номер по каталогу 9325).

РЕФЕРЕНСНЫЕ ЗНАЧЕНИЯ

При рождении большая часть гемоглобина в эритроцитах здорового индивидуума представляет собой фетальный гемоглобин, HbF. Также присутствует некоторое количество основного типа гемоглобина взрослого человека, HbA, и малое количество HbA2. На конец первого года жизни и в течение всей взрослой жизни основной тип гемоглобина – это HbA, на фоне до 3,7% HbA2 и менее 2% HbF.



Тел. +44 (0)191 482 8440
Факс +44 (0)191 482 8442
Эл. почта info@helena-biosciences.com
www.helena-biosciences.com

Helena Biosciences Europe Queensway South,
Team Valley Trading Estate, Gateshead,
Tyne and Wear, NE11 0SD, United Kingdom

ЛИТЕРАТУРА

1. Wintrobe, Maxwell M., Clinical Hematology, 6th Edition, Lea and Febiger, Philadelphia, 1967. pages 145-167.
2. Fairbanks, V.F., 'The Nomenclature and Taxonomy of Hemoglobin Variants', Diagnostic Medicine, Nov/Dec., 53-58, 1980.
3. Schneider, R.G., Hightower, B.J. and Barwick, R.C., 'Laboratory Identification of the Hemoglobins', Lab Management, 1981; August: 29-43.
4. Center for Disease Control, Laboratory Methods for Detecting Hemoglobinopathies, U.S. Department of Health and Human Services/Public Health Service, 1984.
5. Schneider, R.G., 'Methods for Detection of Hemoglobin Variants and Hemoglobinopathies in the Routine Clinical Laboratory', CRC Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences, 1978.
6. Schneider, R.G., Hightower, B., Hosty, T.S., Ryder, H., Tomlin, G., Atkins, R., Brimhall, B., and Jones, R.T., 'Abnormal Hemoglobins in a Quarter Million People', Blood, 1976; 48(5) : 629-637.
7. Huisman, T.H.J. and Schroeder, W.A., 'New Aspects of the Structure, Function and Synthesis of Hemoglobins'. CRC Press, Cleveland, 1971.
8. Schmidt, R.M., Huisman, T.H.J., and Lehmann, H., The Detection of Hemoglobinopathies. CRC Press, Cleveland, 1974.
9. Weatherall, D.J. and Clegg, J.B., The Thalassemia Syndromes, Blackwell Scientific Publications, Oxford, 1972.
10. Lehman, H. and Huntsman, R.G., Man's Haemoglobins, J.B. Lippincott Co., Philadelphia, 1974.



Тел. +44 (0)191 482 8440
Факс +44 (0)191 482 8442
Эл. почта info@helena-biosciences.com
www.helena-biosciences.com

Helena Biosciences Europe Queensway South,
Team Valley Trading Estate, Gateshead,
Tyne and Wear, NE11 0SD, United Kingdom

Helena BioSciences Europe

Тест-система "Изоэлектрофокусирование иммуноглобулинов (IgG) в СМЖ " для приборов SAS-MX, SAS-1, SAS-3 (SAS-MX, SAS-1, SAS-3 "SAS IgG IEF Kit")

Инструкция по применению

НАЗНАЧЕНИЕ.

Тест-система ИЗОЭЛЕКТРОФОКУСИРОВАНИЕ IgG (IgG-IEF) предназначена для идентификации IgG-специфических олигоклональных полос в сыворотке крови и спинномозговой жидкости методом электрофореза на агарозном геле с применением изоэлектрического фокусирования и иммуноблоттинга. Набор The Helena BioSciences IgG-IEF Kit разработан на основе оригинального метода Keir, G. *et al*.

Диагностика рассеянного склероза – основное клиническое назначение набора, хотя анализ СМЖ указывает и на воспалительные процессы в центральной нервной системе, показывая олигоклональные полосы на электрофорезе в иммуноглобулиновых пробах. Набор IgG IEF разделяет белки сыворотки и белки СМЖ согласно их изоэлектрической точке в агарозном геле при pH от 3 до 10. Белки затем переносятся на нитроцеллюлозную мембрану и подвергаются иммунофиксации для дальнейшего визуального определения IgG –специфичных полос. Образцы оцениваются качественно на наличие или отсутствие олигоклональных полос в сыворотке и/или СМЖ.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Все реагенты предназначены только для диагностического использования в условиях in-vitro. Не глотать и не липегировать ртом ни один компонент набора. Надевать перчатки при работе со всеми компонентами набора. См. паспорт безопасности химического вещества, положения о рисках и обеспечении безопасности, а также информацию об утилизации.

СОСТАВ

1. IgG IEF гели (×10)

Содержат агарозу и сефарозу, pH 3-10 с тимеросалом в качестве консерванта. Гель упакован и готов к использованию.

2. IgG IEF Anode Solution Буфер для анода (1 × 25ml)

Содержит 0.3M уксусную кислоту. Раствор готов для использования.

3. IgG IEF Cathode Solution Буфер для катода (1 × 25ml)

Содержит 1M NaOH. Буфер готов для использования.

4. IgG IEF Blocking Agent Блокирующий компонент (1 × 10g)

Содержит сухой белковый остаток коровьего молока. IgG-IEF Blocking Agent используется для приготовления 2 рабочих растворов.

Блокирующий раствор А: растворить 1 г порошка в 50 мл солевого буфера.

Блокирующий раствор В: 5 мл аликвоту Блокирующего раствора А довести до 50 мл солевым буфером.

5. IgG IEF Acetate Buffer Concentrate Концентрат Ацетатного буфера (1 × 25ml)

Содержит 0.2M ацетатный буфер pH 5.1.

2,5 мл аликвоту концентрированного ацетатного буфера довести до 25 мл дистиллированной водой за 5 минут до использования.

6. IgG IEF Хромоген (1 × 0.05g)

Содержит 3-amino-9-ethyl-carbazole порошок. Растворить содержимое пузырька в 50 мл чистого метанола. Аликвотировать по 5мл и хранить в темноте при -20°C. Используйте для этого специальную стеклянную посуду, чтобы предотвратить контаминацию в хромогене.

7. Антитела для набора 102200 (1 × 200µl)

Содержит антитела овцы против IgG человека, меченные пероксидазой. Готов для использования.

ДРУГИЕ КОМПОНЕНТЫ НАБОРА.

Каждый набор содержит инструкцию для пользователя и достаточное количество мембран для блоттинга (Blotting Membranes), блоттеров С и D (Blotters C and D), полос для электродов (Electrode Wicks), полос для блоттеров (Wick Blotters) и промокательной бумаги (Soak-away Blotters) на 10 гелей.

УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И СРОК ГОДНОСТИ

1. IgG IEF Гели

Гель следует хранить при температуре 15-30°C, в этом случае гели сохраняют стабильность до окончания срока годности, указанного на упаковке. НЕ ОХЛАЖДАТЬ И НЕ ЗАМОРАЖИВАТЬ. Испорченный гель можно определить по следующим признакам: 1) кристаллический внешний вид, который указывает на то, что гель был заморожен; 2) ломкость и отслаивание, свидетельствующие о высыхании геля; 3) видимое загрязнение агарозы бактериальными или грибковыми источниками

2. IgG IEF Буфер для анода

Буфер для анода следует хранить при температуре 15-30°C, в этом случае он сохраняет стабильность до окончания срока годности, указанного на ярлыке. Помутнение раствора или инородные включения могут говорить о его порче.

3. IgG IEF Буфер для катода

Буфер для катода следует хранить при температуре 15-30°C, в этом случае он сохраняет стабильность до окончания срока годности, указанного на ярлыке. Помутнение раствора или инородные включения могут говорить о его порче.

4. IgG IEF Blocking Agent

Blocking agent следует хранить при температуре 15-30°C, в этом случае он сохраняет стабильность до окончания срока годности, указанного на ярлыке. Должен быть не спрессованным (рассыпчатым) белым (возможен слабый оттенок) порошком, любые изменения, в том числе и окраски, могут свидетельствовать о порче.

5. IgG IEF Acetate Buffer Concentrate

Концентрат ацетатного буфера следует хранить при температуре 15-30°C, в этом случае он сохраняет стабильность до окончания срока годности, указанного на ярлыке. Помутнение раствора или инородные включения могут говорить о его порче.

6. IgG IEF Chromagen Хромоген

Хромоген должен храниться при температуре 2...6°C, в этом случае он сохраняет стабильность до окончания срока годности, указанного на ярлыке. Замороженные аликвоты стабильны в течение 6 месяцев. Раствор хромогена должен иметь красно-коричневую окраску, изменение ее или ухудшение качества окрашивания может указывать на порчу раствора.

7. Антитела 102200 Kit:

IgG IEF Single Antibody

Раствор антител должен храниться при температуре 2...6°C, в этом случае он сохраняет стабильность до окончания срока годности, указанного на ярлыке. Помутнение раствора или инородные включения могут говорить о порче.

НЕОБХОДИМЫЕ КОМПОНЕНТЫ, НЕ ВКЛЮЧЕННЫЕ В НАБОР

Cat. No. 4065 Helena IEF Камера

Cat. No. 1525 EPS 600 Источник питания

Cat. No. 1349/1111 REP IEF/SPIFE IEF Комплект электродов

Cat. No. 5014 Вес для проявления

Cat. No. 211400 Ванночки

Cat. No. 102210 Контроль (добавить 100 мл очищенной воды, тщательно перемешать до однородной массы; хранить 5 дней при температуре 2-6°C)

30% пероксид водорода, Метанол, Солевой раствор (0.85%NaCl)-физ.раствор, Дистиллят

ОТБОР И ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦОВ

Предпочтение следует отдать свежесобраным образцам сыворотки или СМЖ. Образцы могут храниться при 2...6°C до 3 дней и 2 недели при температуре -20°C. С образцами СМЖ следует обращаться аккуратно. Образцы сыворотки должны быть разбавлены физиологическим раствором до концентрации IgG эквивалентной его содержанию в СМЖ (0,3-0,5 мг/л).

ПОШАГОВАЯ ПРОЦЕДУРА

1. Достаньте гель из упаковки и положите на бумажное полотенце. Снимите прозрачную защитную пленку и наложите блоттер C (blotter C), подождите 10-30 секунд – блоттер должен полностью намокнуть, удалите блоттер.

2. Намочите полоску для электродов (electrode wick) в буфере для анода и промокните почти до сухого состояния между двумя блоттерными полосками (wick blotters).

Поместите эту электродную полоску на анодный (+) край геля. Повторите ту же самую процедуру для катодного буфера и поместите соответствующую полоску на катодный (-) край геля. **ВАЖНО:** следите, чтобы катодный и анодный буфер не смешивались.

3. Поместите 5мкл образца в каждое углубление для образцов на геле. Важно делать это медленно, чтобы не повредить гель и исключить контаминацию.

4. SAS-1 Plus:

i. Нанесите 400 мкл дистиллированной воды в камеру. Поместить гель на теплоотвод стороной с агарозой вверх, совместив положительные и отрицательные стороны геля с соответствующими стойками электродов, при этом следует исключить попадание пузырьков воздуха под гель.

ii. Подсоединить электроды к верхней части стоек электродов таким образом, чтобы они контактировали с электродными полосками.

iii. Провести IgG-IEF электрофорез:

Число аппликаций - 0

Электрофорез Напряжение 600 Вольт

Температура электрофореза 15°C

Время 60:00 мин

Инкубация OFF

5. После фокусирования, положите гель на блоттер D (blotter D). Удалите буферные полоски.

6. Подготовьте 2 НЦ мембраны. Смочите первый лист мембраны в дистилляте. Дайте воде стечь. Тщательно просушите мембрану между двумя бумажными полотенцами. Осторожно поместите мембрану, красной точкой вниз, на поверхность геля при помощи ролика – держите мембрану за верхний край почти под прямым углом к гелю, накатывая ролик, постепенно опускайте мембрану на гель, как бы вытесняя воздух между мембраной и гелем. Не требуется прокатывать ролик несколько раз! Оставьте в таком положении 10 секунд и затем аккуратно удалите.

7. Смочите второй лист мембраны в дистилляте или в 10% растворе метанола. Дайте лишней жидкости стечь с мембраны, держа ее вертикально в течение 10-20 секунд. Осторожно поместите мембрану, красной точкой вниз, на поверхность геля как указано выше. Не удаляйте мембрану. Положите сверху блоттер C (blotter C), три блоттера D (blotter D) и груз. Оставьте на 30 минут.

8. Удалите блоттеры и поместите мембрану, красной точкой вверх, в лоток для окрашивания, добавьте 20 мл блокирующего раствора А, так, чтобы мембрана была погружена целиком. Осторожно помешивайте в течение 30 минут.

9. Промойте мембрану несколько раз в дистилляте.

10. В 15 мл блокирующего раствора В добавьте 15 мкл антител (single step antibody) и тщательно перемешайте. Опустите мембрану в полученный раствор так, чтобы мембрана была погружена целиком. Оставьте на 30 минут периодически осторожно помешивая.

11. Промойте мембрану дистиллятом несколько раз, залейте 20 мл солевого раствора и оставьте на 5 минут, помешивая. Снова промойте дистиллятом. Приготовьте окрашивающий раствор: 25 мл ацетатного буфера (разбавленного как описано выше), 5 мл хромогенного буфера и 25 мкл пероксида водорода. Залейте мембрану этим раствором.

Окрашивайте в течение 20 минут осторожно перемешивая. Раствор должен изменить оттенок на зеленоватый.

12. Промойте мембрану дистиллятом несколько раз и высушите в токе воздуха или на бумажном полотенце.

Интерпретация результатов

Полосы IgG становятся видимыми на мембране (окрашены в красный/красно-коричневый цвет). Сравнение образцов пары сыворотка/СМЖ должно являться стандартной процедурой. При различных болезнях полосы в образце могут носить моноклональный или олигоклональный характер. Образцы пациентов, страдающих рассеянным склерозом (РС), обычно дают олигоклональный IgG ответ в СМЖ и не обнаруживают полос в образце сыворотки. Интерпретация полученных образцов должна производиться с учетом истории болезни пациента.

Контроль качества

Использование СМЖ от донора с позитивными олигоклональными полосами рекомендуется для использования на каждом геле как контрольный образец для подтверждения всех стадий процедуры в случае отсутствия коммерчески доступного контрольного материала.

Возможные проблемы

Проблемы	возможные причины и способы устранения
Нет окрашивания полос образца.	а) образец не был нанесен. б) первичные и/или вторичные антитела не сработали/не были нанесены. с) не добавлена перекись водорода.
Равномерно и сильно окрашен фон	а) пропущен шаг блоттинга. б) недостаточная промывка мембраны во время шагов иммунофиксации и прокрашивания.
Сильно, но неравномерно окрашен фон	а) пропущен или выполнен неправильно шаг предблоттинговой подготовки
Линии образца окрашены, но слабо выражены.	а) нанесено недостаточное количество образца. б) недостаточное время прокрашивания. с) старая или загрязненная перекись водорода. д) спад активности антител из-за неправильного хранения. е) окисленный хромоген (появится черный цвет). ф) pH ацетатного буфера не верен (должен быть 5.0 - 5.2).
Линия образца чрезвычайно окрашена.	а) нанесено превышающее количество образца, потеряно разрешение. б) Передержано в окрашивающем растворе (редко).
Линии образца деформированы/размазаны.	а) не использовалась полоска для удаления избытка жидкости. б) конденсат на поверхности геля из-за переизбыточного охлаждения геля.
Вся краска в ячейке нанесения образца	а) Во время электрофореза не было подключено питание.
Белые пятна в прокрашенном образце.	а) воздушные пузыри между гелем и мембраной во время стадии пресса. б) убедитесь в том, что мембрана перед использованием смочена и что пузыри между гелем и мембраной удалены.

Аналитические характеристики

Чувствительность: Дискретные полосы хорошо выражены на мембране при концентрации IgG равной 0.28мг/л в СМЖ.

Воспроизводимость

а. На одном геле

Один образец СМЖ, протестированный на 10 дорожках одного геля показал одинаковое расположение полос.

б. Между гелями

Один и тот же образец был тестирован на трех разных гелях и на каждом из них показал одинаковое положение полос.

Специфичность

Используемые в наборе антитела высоко специфичны для IgG, и не обнаруживают перекрестных реакций с IgA или IgM человека.

Тест-система "Изоэлектрофокусирование трансферрина" для приборов SAS-1, SAS-3 (SAS-1, SAS-3 "TRANSFERRIN IEF Kit")

ПРИМЕНЕНИЕ

Тест-система IEF трансферрина предназначена для выявления изоформ трансферрина в сыворотке крови человека путем сочетания изоэлектрического фокусирования и иммуноблоттинга.

Трансферрин является белком, участвующим в транспорте железа, который обладает микрогетерогенностью в результате изменений в степени гликозилирования и насыщения железом. Среди изоформ трансферрина в крови, содержатся 4 остатка сиаловых кислот, связанных с двумя еденицами олигосахаридов 1, 2. Эти остатки сиаловых кислот оказывают влияния на электрофоретическую подвижность молекулы трансферрина, таким образом их последовательное удаление приводит к по меньшей мере 6 возможным состояниям заряда 1-3. Аномальное распределение различных изоформ трансферрина, в частности, формы с большим числом остатков сиаловых кислот, было связано с рядом патологических состояний, включая гемохромостаз, артрит и рак 4-5.

Повышение уровня изоформ с меньшим количеством остатков сиаловых кислот (диссиалотрансферрин и ниже), принято обозначать общим термином безуглеводный трансферрин (CDT), были связаны с относительно небольшим числом государств болезни. Изоэлектрофокусирование трансферрина в сыворотке по праву считается самым мощным скрининг-тестом на CDG (Врожденные заболевания гликозилирования), хотя не все виды можно обнаружить с помощью этого теста. Тип 1 IEF образца (наблюдается в CDG-I) характеризуется уменьшением тетра-сиало-трансферрина и увеличением ди- и асиало-трансферрина, в то время как тип 2 показывает (наблюдается в CDG-II) увеличение три- и моносиало-трансферрина 6. Увеличение изоформ CDT обнаружены в сыворотке крови больных алкоголизмом, особенно молекулы диссиало-трансферрина 7 и увеличение соотношения диссиало-трансферрина в общем трансферрине увеличивается в случаях чрезмерного потребления алкоголя 5, и что экскреция алкоголя приводит к постепенному исчезновению изоформы диссиало-трансферрина в течение 2-3 недель после воздержания от употребления алкоголя 8,9. Утечка ЦСЖ через нос или ухо в результате травмы (хирургическое лечение, перелом основания черепа, повышение внутричерепного давления) может быть подтверждено наличием асиало-трансферрина (тау белка) с использованием метода изоэлектрофокусирования на агарозе.

Тест-система Трансферрин- IEF определяет изоформы трансферрина в соответствии с изоэлектрической точкой в агарозном геле IEF, pH 5-6. В условиях *in vitro* насыщение молекул трансферрина гарантирует, что только Fe²⁺-трансферрин присутствует в сыворотке крови образца, тем самым уменьшается число изоформ и микрогетерогенность сводится к минимуму фокусировка с различными вариантами сиаловой кислоты и железа, но при той же изоэлектрической точке. Белки, которые затем переносятся на нитроцеллюлозу и нитроцеллюлоза подвергается иммунофиксации позволяет визуализировать трансферрин конкретных групп. Модели интерпретируются качественно, путем сравнения наличия или отсутствия частных сиаловых изоформ трансферрина.

БЕЗОПАСНОСТЬ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Все реагенты предназначены для использования только в лабораторных условиях.

Не глотайте реактивы и не пытайтесь набирать их при помощи рта. При работе надевайте



Тел. +44 (0)191 482 8440
Факс +44 (0)191 482 8442
Эл. почта info@helena-biosciences.com
www.helena-biosciences.com

Helena Biosciences Europe Queensway South,
Team Valley Trading Estate, Gateshead,
Tyne and Wear, NE11 0SD, United Kingdom

перчатки. За информацией по охране труда и утилизации обращайтесь к спецификации по технике безопасности.

СОСТАВ

1. Трансферрин IEF-гель

Состоит из агарозы и сепараторов, pH 5-6 с тиомерсалом в качестве консерванта. Гель упакован в готовом к использованию виде.

2. IEF Анодный раствор

Содержит 0,3 М уксусной кислоты. Раствор упакован в готовом к использованию виде.

3. IEF катодный раствор

Состоит из 0,1 М NaOH. Раствор упакован в готовом к использованию виде.

4. IEF блокирующий агент

Содержит сухой белковый остаток коровьего молока.. IgG- IEF блокирующий агент используется для приготовления двух рабочих растворов: Блокирующий раствор А: Растворите 1G порошка в 50 мл физиологического раствора. Блокирующий раствор В: Развести 5ml блокирующего раствора А до 50 мл физиологическим раствором.

5. IEF концентрат ацетатного буфера

Содержит 0,2 М ацетатного буфера pH 5,1. Разбавить 2,5 мл концентрата ацетатного буфера 25ml очищенной воды перед применением и немедленно использовать.

6. IEF Хромогенный субстрат

Состоит из порошка 3-амино-9-этил-карбазола. Растворить содержимое флакона в 50 мл метанола. Хранить можно аликвоты по 5ml при температуре -20 ° C в темноте. Используйте для этого специальную стеклянную посуду, чтобы предотвратить контаминацию в хромогене.

7. Раствор хлорида железа

Содержит 22 mM хлорида железа. Раствор упакован в готовом к использованию виде.

8. Бикарбонат натрия

Содержит 1.2 М бикарбоната натрия. Раствор упакован в готовом к использованию виде.

9. Антитела содержащиеся в наборе (кат.№ 103100)

Трансферрин- IEF первичные антитела, содержат кроличьи антитела к человеческому сывороточному трансферрину.

Трансферрин- IEF вторичные антитела

Содержат из козы антитела к IgG кролика конъюгированные с пероксидазой.

10. Другие компоненты набора.

Каждый набор содержит инструкции по эксплуатации и достаточное количество мембранных блоттов, шаблоны, блоттеров А, С и D, полоски для электродов, полоски блоттеров и промокательную бумагу в количестве для проведения анализа на 10 гелей.

Хранение и срок годности

1. IEF трансферрина, гель

Гели должны храниться при температуре 15 ... 30 ° C и стабильны до окончания срока годности на упаковке.

НЕ хранить в холодильнике и не замораживать.

УО порче геля свидетельствует: 1) появление

кристаллических структур, указывающих на факт замораживания геля; 2)

растрескивание и расслаивание, сопровождающее высыхание геля; 3) видимая

бактериальная или грибковая контаминация агарозы.

2. IEF Анодный раствор.



Тел. +44 (0)191 482 8440
Факс +44 (0)191 482 8442
Эл. почта info@helena-biosciences.com
www.helena-biosciences.com

Helena Biosciences Europe Queensway South,
Team Valley Trading Estate, Gateshead,
Tyne and Wear, NE11 0SD, United Kingdom

Раствор для анода следует хранить при температуре 15-30°C, в этом случае он сохраняет стабильность до окончания срока годности, указанного на ярлыке. Помутнение раствора или инородные включения могут говорить о его порче.

3. IEF Буфер для катода

Буфер для катода следует хранить при температуре 15-30°C, в этом случае он сохраняет стабильность до окончания срока годности, указанного на ярлыке. Помутнение раствора или инородные включения могут говорить о его порче.

4. IEF блокирующий агент

Блокирующий агент следует хранить при температуре 15-30°C, в этом случае он сохраняет стабильность до окончания срока годности, указанного на ярлыке. IgG-IEF Blocking Agent должен быть не спрессованным (рассыпчатым) белым (возможен слабый оттенок) порошком, любые изменения, в том числе и окраски, могут свидетельствовать о порче.

5. IEF концентрат ацетатного буфера

Концентрат ацетатного буфера следует хранить при температуре 15-30°C, в этом случае он сохраняет стабильность до окончания срока годности, указанного на ярлыке. Помутнение раствора или инородные включения могут говорить о его порче.

6. IEF Хромогенный субстрат

Хромоген должен храниться при температуре 2...6°C, в этом случае он сохраняет стабильность до окончания срока годности, указанного на ярлыке. Замороженные аликвоты стабильны в течение 6 месяцев. Раствор хромогена должен иметь красно-коричневую окраску, изменение ее или ухудшение качества окрашивания может указывать на порчу раствора.

7. Раствор хлорида железа

Раствор должен храниться при температуре 2...6°C, в этом случае он сохраняет стабильность до окончания срока годности, указанного на ярлыке.

Помутнение раствора или инородные включения могут говорить о его порче.

8. Бикарбоната натрия

Раствор должен храниться при температуре 2...6°C, в этом случае он сохраняет стабильность до окончания срока годности, указанного на ярлыке. Если происходит кристаллизация выдержите смесь при комнатной температуре пока раствор не станет прозрачным.

9. Антитела содержащиеся в наборе (кат.№ 103100):

Трансферрин- IEF первичные антитела

Раствор антител должен храниться при температуре 2 ... 6 ° C в этом случае он сохраняет стабильность до окончания срока годности, указанного на ярлыке. Помутнение раствора или инородные включения могут говорить о его порче.

Трансферрин- IEF вторичные антитела

Раствор антител должен храниться при температуре 2 ... 6 ° C в этом случае он сохраняет стабильность до окончания срока годности, указанного на ярлыке. Помутнение раствора или инородные включения могут говорить о его порче.

ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЕ НЕОБХОДИМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

30% (по объему) перекись водорода

Физиологический раствор (0,85% NaCl)

Cat. № 3100 Теплоотводящая жидкость

Cat. № 5014 Вес для проявления

Вортекс



Тел. +44 (0)191 482 8440
Факс +44 (0)191 482 8442
Эл. почта info@helena-biosciences.com
www.helena-biosciences.com

Helena Biosciences Europe Queensway South,
Team Valley Trading Estate, Gateshead,
Tyne and Wear, NE11 0SD, United Kingdom

Метанол
Дистиллированная вода
ИП и камера для проведения изоэлектрофокусирования

ПРИГОТОВЛЕНИЕ ОБРАЗЦОВ

Предпочтительными образцами являются свежая сыворотка либо спинномозговая жидкость (СМЖ). Образцы могут храниться при температуре от +2 до +6°C в течение 3 дней, или при температуре -20°C в течение 2 недель.

Насыщение образца железом (для сыворотки)

К 100мкл сыворотки добавьте 25мкл 22мМ раствора хлорида железа и 12мкл 1,2М раствора бикарбоната натрия. Тщательно перемешайте и инкубируйте в течение 2 часов при комнатной температуре (+15-30°C). Затем перемешайте образцы с помощью вихревой мешалки (Вортэкс) и немедленно разведите физиологическим раствором до внесения в гель (на 10мкл образца 50мкл физиологического раствора).

Примечание: СМЖ должна использоваться в чистом виде. Насыщения образцов СМЖ железом не требуется, поскольку не обнаружено никаких генетических или гликированных разновидностей трансферрина (независимо от содержания железа), которые бы обладали такой же электрофоретической подвижностью, как тау-белок. Это означает, что результаты анализа образца, рассматривающегося как СМЖ, могут быть получены максимально быстро.

ПОЭТАПНАЯ ПРОЦЕДУРА

1. Достаньте гель из упаковки и поместите на бумажное полотенце. Промокните его поверхность с помощью блоттера С, затем удалите блоттер.
2. Совместите матрицу для внесения образцов со стрелками вдоль края геля. Поместите блоттер А поверх матрицы и слегка проведите пальцем вдоль щелей, чтобы обеспечить надежный контакт. Удалите блоттер А, но сохраните его для использования на этапе 5.
3. Внесите по 5мкл образца в каждую щель и позвольте образцам абсорбироваться в течение 10 минут.
4. Пока образцы абсорбируются, погрузите один электродный фитиль в анодный раствор и почти досуха промокните его между двумя фитильными блоттерами. Поместите указанный фитиль вдоль анодного (+) края геля. Избегайте смешивания анодного и катодного растворов.
5. После абсорбции образцов, слегка промокните матрицу с помощью блоттера А, сохраненного после этапа 2, затем удалите матрицу и блоттер. Этап электрофореза должен начаться не позднее 5 минут после удаления матрицы для внесения образцов.
6. Погрузите один электродный фитиль в катодный раствор и почти досуха промокните его между двумя фитильными блоттерами. Поместите указанный фитиль вдоль катодного (-) края геля.

ПРИМЕЧАНИЕ: Следуйте процедуре, соответствующей прибору.

7а. При использовании блока REP:

- I. Поместите гель в камеру REP, используя 0,5мл REP Prep между задней стороной геля и дном камеры. Не набирайте REP Prep с помощью рта. Поместите анодный фитиль под центральный анодный электрод электродного узла блока REP IEF и катодный фитиль под внешний катодный электрод. Поместите по одному дренажному блоттеру снаружи



Тел. +44 (0)191 482 8440
Факс +44 (0)191 482 8442
Эл. почта info@helena-biosciences.com
www.helena-biosciences.com

Helena Biosciences Europe Queensway South,
Team Valley Trading Estate, Gateshead,
Tyne and Wear, NE11 0SD, United Kingdom

от катодного и анодного электродов для удаления избытка жидкости. Убедитесь, что дренажные блоттеры находятся в контакте с гелем.

II. Запрограммируйте REP следующим образом (оставляя все другие поля пустыми):

Вольтаж электрофореза	600В
Время электрофореза	45:00 мин:сек
Температура электрофореза	+10-20°C
Рабочая температура	+16°C

III. Нажмите FI, чтобы запустить электрофорез.

7б. При использовании блока SAS-3/SPIFE:

I. Используйте SAS-3/SPIFE электродный узел. Поместите гель, электроды, фитили и дренажные блоттеры в камеру SAS-3/SPIFE, как это описано в пункте 7а для блока REP.

II. Запрограммируйте SAS-3/SPIFE следующим образом с соответствующим названием теста:

Электрофорез	45:00 мин:сек	+10°C	600В
Завершение теста			

III. Закройте крышку камеры и нажмите «START», а затем «TEST SELECT», чтобы запустить электрофорез.

7в. При использовании обычных систем изoeлектрофокусирования (ИЭФ):

I. Следующие параметры должны быть соблюдены в случае использования альтернативных систем ИЭФ:

Мощность	10-20Вт
Предел напряжения	600В
Предел силы тока	50мА
Время электрофореза	30:00 мин:сек
Рабочая температура	+10-20°C

7г. При использовании камеры Helena IEF (Cat. No. 4065):

I. Следующие параметры должны быть соблюдены в случае использования камеры Helena IEF:

Вольтаж электрофореза	400В
Время электрофореза	60:00 мин:сек

7д. При использовании SIS-I Plus (Cat. No. 1531):

I. Добавьте 0,5мл REP Prep в основание SIS-I Plus. Не набирайте REP Prep с помощью рта. Поместите гель в основание SIS-I Plus, избегая образования пузырьков воздуха под гелем. Удалите избыток REP Prep куском ткани, если это необходимо.

II. Следующие параметры должны быть соблюдены в случае использования SIS-I Plus:

Номер заявки	0
Вольтаж электрофореза	600В
Температура электрофореза	+15°C
Время электрофореза	45:00 мин:сек
Инкубация	выкл

Техническое примечание:

Используемый вольтаж, время и температура фокусирования должны быть определены в каждой конкретной лаборатории в соответствии с необходимой длиной пробега белков анализируемых образцов. Кроме того, температура должна выбираться так, чтобы минимизировать конденсацию на поверхности геля, которая может привести к размытию дорожек образцов. Нельзя допускать избыточной фокусировки, поскольку катодный ток



Тел. +44 (0)191 482 8440
Факс +44 (0)191 482 8442
Эл. почта info@helena-biosciences.com
www.helena-biosciences.com

Helena Biosciences Europe Queensway South,
Team Valley Trading Estate, Gateshead,
Tyne and Wear, NE11 0SD, United Kingdom

белков может привести к их потере в катодном фите, так же как к появлению разрывов в градиенте. При использовании камеры Helena IEF убедитесь, что охлаждающий элемент предварительно охладился до +5°C.

ЭТАП ИММУНОФИКСАЦИИ

1. После этапа фокусирования, поместите гель на блоттер D. Удалите электродные фитили.
2. Предварительно увлажните блоттинг-мембрану в дистиллированной воде. Удалите избыток воды путем осторожного промокания мембраны между двумя бумажными полотенцами или кусками ткани. Аккуратно поместите блоттинг-мембрану на поверхность геля красной точкой вниз. Позвольте мембране увлажниться за счет впитывания жидкости из геля, чтобы предотвратить образование воздушных полостей. Выждите 10 секунд и удалите ее.
3. Предварительно увлажните вторую блоттинг-мембрану в дистиллированной (деионизированной) воде или 10% водном растворе метанола. Позвольте избытку жидкости удалиться с мембраны, подержав ее в вертикальном положении в течение 10-20 секунд. Аккуратно положите эту блоттинг-мембрану на поверхность геля красной точкой вниз и слегка проведите по ее поверхности пальцем, чтобы обеспечить надежный контакт с гелем и удалить воздушные полости между гелем и мембраной (избегайте чрезмерного давления, которое может повредить гель). Поместите поверх мембраны один блоттер C, три блоттера D и достаточный вес, прижав на 30 минут. Вес должен составлять от 2 до 2,5 кг.
4. Удалите блоттеры и поместите блоттинг-мембрану красной точкой вверх в сосуд для окрашивания, содержащий 20мл блокирующего раствора A, так, чтобы вся поверхность мембраны была им покрыта. Аккуратно перемешивайте в течение 15 минут.
5. Промойте мембрану в воде несколько раз.
6. Поместите мембрану в 15мл блокирующего раствора B, содержащего 15мкл первичных антител, на 15 минут с аккуратным перемешиванием. Промойте мембрану в воде несколько раз, а затем в физиологическом растворе в течение 5 минут. Поместите мембрану в 15мл блокирующего раствора B, содержащего 15мкл вторичных антител, на 15 минут при осторожном перемешивании.
7. Промойте мембрану в воде несколько раз, а затем в физиологическом растворе в течение 5 минут. Ополосните в очищенной воде. Поместите мембрану в раствор, содержащий 25мл ацетатного буфера (разбавленного как указано), 5мл раствора хромогена и 25мкл перекиси водорода. Позвольте проявиться окраске в течение 20 минут при медленном перемешивании. На данном этапе возможно появление осадка хромогена.
8. Сполосните мембрану водой несколько раз и позвольте ей высохнуть.

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Готовый гель можно оценить на наличие или отсутствие интересующих фракций (полос) визуально, либо можно отсканировать при помощи планшетного сканера и программного обеспечения Platinum. Хотя известно около 8 изоформ трансферрина, выделяемых по числу присоединенных к молекуле остатков сиаловой кислоты, у нормальных индивидов преобладает тетрасиало-изоформа (~80% от всего трансферрина), за ней следует пентасиало- (~10%) и трисиало- (~8%) изоформы. Молекулы трансферрина с углеводной недостаточностью (дисиало-, моносиало и асиало-изоформы) обычно присутствуют в количестве менее 2% от всего трансферрина. Интерпретация полученных результатов должна осуществляться с учетом клинической истории пациента.



Тел. +44 (0)191 482 8440
Факс +44 (0)191 482 8442
Эл. почта info@helenabiosciences.com
www.helena-biosciences.com

Helena Biosciences Europe Queensway South,
Team Valley Trading Estate, Gateshead,
Tyne and Wear, NE11 0SD, United Kingdom

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

При отсутствии имеющегося в продаже контрольного материала рекомендуется использовать образцы с известным количеством трансферрина в каждом геле в качестве контрольной пробы для подтверждения правильности проведения всех этапов процедуры.

ПРОБЛЕМЫ И НЕИСПРАВНОСТИ

Следующая таблица подробно описывает возможные причины и решения некоторых наиболее часто возникающих проблем, связанных с ИЭФ и последующим иммуоблоттингом.

Суть проблемы	Возможные причины и решения
Не окрашены дорожки образцов.	а) Не добавлен образец. б) Пропущен этап добавления первичных и/или вторичных антител. в) Не добавлена перекись водорода.
Интенсивно и однородно окрашен фон.	а) Пропущен этап добавления блокирующего раствора б) Неправильно выполнена промывка блоттинг-мембраны на этапе иммуофиксации и окрашивания.
Интенсивно, но неравномерно окрашен фон.	а) Пропущены или неправильно выполнены этапы, предшествующие блоттингу.
На дорожках образцов окраска есть, но очень слабая.	а) Использовано недостаточное количество образца. б) Использовано недостаточное время окрашивания. в) Использована старая или загрязненная перекись водорода. г) Разрушены антитела в результате неправильного хранения. д) Хромоген окислен (выглядит черным). е) Несоответствующее значение pH ацетатного буфера (должно быть 5,0-5,2).
Дорожки образцов интенсивно окрашены.	а) Использовано избыточное количество образца с потерей разрешения. б) Образец передержан (редко).
Дорожки образцов искривлены или размыты.	а) Не использовались дренажные блоттеры. б) Конденсация на поверхности геля из-

Вся окраска сосредоточена в месте внесения образцов.

Белые пятна в окрашенном образце.

за его чрезмерного охлаждения.

а) Не было подключено питание во время электрофореза.

а) Имелись воздушные пузырьки между гелем и мембраной на стадии блоттинга.

б) Убедитесь, блоттинг-мембрана предварительно увлажнена, а воздушные пузырьки между мембраной и гелем удалены.

ЭКСПЛУАТАЦИОННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Воспроизводимость

а. Внутри одного геля

Одиночный образец трансферрина показал при проверке одинаковый результат на всех 10 дорожках одного геля.

б. Между гелями

Тот же образец проверялся на 3 различных гелях и показал одинаковый результат в каждом из них.

Специфичность

Было показано, что антитела, используемые в наборе, являются специфичными к трансферрину, и выявляется только трансферриновая дуга преципитации против человеческой плазмы.

ЛИТЕРАТУРА

1. De Jong, G. and van Eijk, H.G., 'Functional Properties of the carbohydrate Moiety of Human Transferrin', *Int. J. Biochem.*, 1989; 21: 253-263.
2. Giblett, E.R., 'The Plasma Transferrins [Review]', *Prog. Med. genet.* 1962; 2: 34-36.
3. van Noort, W.L. and van Eijk H.G., 'Separation of Human Serum and Cerebrospinal Fluid Transferrins in Subfractions by Isoelectric Focusing with Phast System and Quantitations with Vetroscan XL Densitometer' *Sci. Tools*, 1992; 36: 1-6.
4. van Eijk H.G., van Noort, W.L., Dubelaar, M.L. and van der Heul, C., *Clin. Chim. Acta*, 1987; 165: 141-145.
5. Stibler, H., Sydow, O. and van den Berg, S. 'Quantitative Estimation of Abnormal Microheterogeneity of Serum Transferrin in Alcoholics', *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 1980; 13 (Suppl. 1): 47-51.
6. Grunewald, S., Matthijs, G. and Jaeken, J. 'Congenital Disorders of Glycosylation: A Review'. *Pediatric Research*, 2002; 52: 618-624.
7. Stibler, H. 'Carbohydrate-deficient Transferrin in Serum: A New Marker of Potentially Harmful Alcohol Consumption Revisited.' *Clin. Chem.*, 1991; 37: 2029-2037.
8. Vesterberg, O., Petren, S. and Schmidt, D. 'Increased Concentrations of a Transferrin Variant After Alcohol Abuse' *Clin. Chim. Acta*, 1984; 141: 33-39.
9. Kapur, A., Wild, G., Milford-Ward, A. and Triger, D.R. 'Carbohydrate-deficient Transferrin: A Marker for Alcohol Abuse' *British Medical Journal*, 1989; 299: 427-431.



Тел. +44 (0)191 482 8440
Факс +44 (0)191 482 8442

Эл. почта info@helena-biosciences.com
www.helena-biosciences.com

Helena Biosciences Europe Queensway South,
Team Valley Trading Estate, Gateshead,
Tyne and Wear, NE11 0SD, United Kingdom

**Тест-система "Иммунофиксация-1" для прибора SAS-MX
(SAS-MX "IFE-1 KIT")**

Тест-система "Иммунофиксация-9" для прибора SAS-3 (SAS-3 "IFE-9")

НАЗНАЧЕНИЕ

Тест-система предназначена для разделения и идентификации моноклональных гаммопатий методом электрофореза в агарозном геле.

Электрофорез с иммунофиксацией (IFE) – это двухступенчатая процедура, использующая электрофорез высокого разрешения в агарозном геле на первом этапе и иммунофиксацию на втором этапе.

Наибольшая потребность в IFE присутствует в клинических лабораториях, где метод используется в первую очередь для определения моноклональных гаммопатий. Моноклональная гаммопатия – это первичное состояние заболевания, при котором один клон клеток плазмы производит повышенные уровни иммуноглобулина определенного класса и типа. Такие иммуноглобулины называют моноклональными белками, М-белками или парапротеинами. Их присутствие может носить неопасный характер или иметь сомнительное значение. В некоторых случаях они указывают на злокачественное развитие заболевания, например множественная миелома или макроглобулинемия Вальденстрема. Следует дифференцировать поликлональную и моноклональную гаммопатию, так как поликлональные гаммопатии представляют собой вторую стадию заболевания, обусловленную клиническими нарушениями, такими как хроническое заболевание печени, коллагеновые нарушения, ревматический артрит и хроническая инфекция.

Белки мочи образуются в первую очередь на основе белков плазмы, которые фильтруются почками. Присутствие аномальных белков плазмы в моче имеет важнейшее значение при оценке почечной функции. Соответствующее исследование протеинурии должно включать количественную и качественную оценки типов и количества выделяемых белков.¹⁻⁵ Комбинация разделения белков мочи методом электрофореза в сочетании с идентификацией отдельных типов белков методом иммунопреципитации позволяет дифференцировать различные типы протеинурии – физиологическую, гломерулярную (селективную и неселективную), тубулярную, а также протеинурию, ассоциируемую с дисглобулинемиями.¹⁻⁵

В литературе иммунофиксация была впервые описана Альфонсо (Alfonso) в 1964 г.⁶ Альпер (Alper) и Джонсон (Johnson) опубликовали более удобную процедуру в 1969 г., а также опубликовали количество исследований, использующих данную методику.⁷⁻⁹ Иммунофиксация использовалась в качестве процедуры для исследования иммуноглобулинов с 1976 г.¹⁰⁻¹¹ Набор аксессуаров SAS-3 IFE используется для разделения белков сыворотки в соответствии с зарядом в агарозном геле. Белки затем инкубируют с моносферической антисывороткой, промывают и окрашивают в целях обеспечения визуализации иммунопреципитата для количественной интерпретации.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Все реагенты предназначены только для диагностического использования в условиях in-vitro. Не глотать и не пипетировать ртом ни один компонент набора. Надевать перчатки при работе со всеми компонентами набора. См. паспорт безопасности химического вещества, положения о рисках и обеспечении безопасности, а также информацию об утилизации.



Тел. +44 (0)191 482 8440
Факс +44 (0)191 482 8442
Эл. почта info@helena-biosciences.com
www.helena-biosciences.com

Helena Biosciences Europe Queensway South,
Team Valley Trading Estate, Gateshead,
Tyne and Wear, NE11 0SD, United Kingdom

СОСТАВ

1. SAS-1 Гель для иммунофиксации

Содержит агарозу в Трис/барбитал буфере с тиомерсалом и азидом натрия в качестве консерванта. Гель упакован готовым к употреблению.

2. Кислотный фиолетовый краситель, концентрат

Содержит концентрированный кислотный фиолетовый краситель. Довести содержимое бутылки до 700 мл с использованием очищенной воды. Перемешать, оставить на ночь, отфильтровать перед использованием. Хранить в бутылки с плотно закрывающейся крышкой.

3. Обесцвечивающий раствор

Содержит концентрированный обесцвечивающий раствор. Довести содержимое бутылки А до 2-х литров с использованием очищенной воды. Затем добавить содержимое бутылки с обесцвечивающим раствором В и еще 3 литра очищенной воды, медленно.

4. Промывочный раствор

Содержит 100 мл концентрированного промывочного раствора. Довести 20 мл до 1 литра с использованием солевого раствора.

5. Разбавитель образца

Содержит буфер Трис/барбитал с бромфенолом синим и азидом натрия в качестве консерванта. Разбавитель упакован готовым к употреблению.

6. Набор антисыворотки SAS-3 IFE

Содержит фиксирующий раствор SP (в составе уксусная кислота и сульфосалициловая кислота), и моносферическую антисыворотку к иммуноглобулинам человека – IgG, IgA, IgM, капла легким цепям (свободным и связанным) и лямбда легким цепям (свободным и связанным). Антисыворотка содержит азид натрия в качестве консерванта. Антисыворотка упакована готовым к употреблению.

7. Другие компоненты набора

Каждый набор содержит инструкцию по применению и достаточное количество промокательной бумаги В, С, D, X и гребенок-блоттеров для выполнения 10 гелей.

УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И СРОК ГОДНОСТИ

1. SAS-1 Гель для иммунофиксации

Гель следует хранить при температуре 15-30°C, в этом случае гели сохраняют стабильность до окончания срока годности, указанного на упаковке. НЕ ОХЛАЖДАТЬ И НЕ ЗАМОРАЖИВАТЬ. Испорченный гель можно определить по следующим признакам: 1) кристаллический внешний вид, который указывает на то, что гель был заморожен; 2) ломкость и отслаивание, свидетельствующие о высыхании геля; 3) видимое загрязнение агарозы бактериальными или грибковыми источниками.

2. Кислотный фиолетовый краситель

Концентрат красителя следует хранить при температуре 15-30°C, в этом случае он сохраняет стабильность до окончания срока годности, указанного на ярлыке. Раствор



Тел. +44 (0)191 482 8440
Факс +44 (0)191 482 8442
Эл. почта info@helena-biosciences.com

www.helena-biosciences.com

Helena Biosciences Europe Queensway South,
Team Valley Trading Estate, Gateshead,
Tyne and Wear, NE11 0SD, United Kingdom

красителя стабилен в течение 6 месяцев при температуре 15-30°C. Рекомендуется незамедлительно утилизировать использованный краситель в целях предотвращения снижения окрашивающей способности. Низкая эффективность окрашивания может указывать на порчу раствора красителя.

3. Обесцвечивающий раствор

Концентрат обесцвечивающего раствора следует хранить при температуре 15-30°C, в этом случае он сохраняет стабильность до окончания срока годности, указанного на ярлыке. Раствор стабилен в течение 6 месяцев при температуре 15-30°C.

4. Промывочный раствор

Концентрат промывочного раствора следует хранить при температуре 15-30°C, в этом случае он сохраняет стабильность до окончания срока годности, указанного на ярлыке. Раствор стабилен в течение 6 месяцев при температуре 15-30°C. Помутнение может свидетельствовать о порче.

5. Разбавитель образца

Разбавитель образца следует хранить при температуре 15-30°C, в этом случае он сохраняет стабильность до окончания срока годности, указанного на ярлыке. Помутнение может свидетельствовать о порче.

6. Набор антисыворотки SAS-1 IFE

Набор антисыворотки следует хранить при температуре 2-6°C, в этом случае он сохраняет стабильность до окончания срока годности, указанного на ярлыке. Инородные включения или помутнение могут свидетельствовать о порче.

НЕОБХОДИМЫЕ КОМПОНЕНТЫ, НЕ ВКЛЮЧЕННЫЕ В НАБОР

Номер по каталогу 210200 Ножи аппликатора для образцов (1 x 10)
 Номер по каталогу 210300 Ножи аппликатора для образцов (5 x 10)
 Номер по каталогу 210100 Одноразовые колпачки для образцов (100)
 Номер по каталогу 5014 Пресс (2,3 кг)
 Номер по каталогу 3100 REP Prep
 Сушильная печь с принудительным движением воздуха, нагрев до 60-70°C
 Солевой раствор (0,85% NaCl)

Следующие позиции не требуются для стандартного IFE сыворотки, однако могут потребоваться для проведения дальнейших исследований и исследований IFE мочи:

Номер по каталогу 220100 Антисыворотка к человеческому общему белку в моче (2 мл)
 Номер по каталогу 220200 Антисыворотка к человеческому микробелку в моче (2 мл)
 Номер по каталогу 220300 Антисыворотка к человеческому макробелку в моче (2 мл)
 Номер по каталогу 220400 Антисыворотка к человеческому GAM белку (2 мл)
 Номер по каталогу 220700 Антисыворотка к человеческой свободной и связанной каппа легкой цепи (2 мл)
 Номер по каталогу 220800 Антисыворотка к человеческой свободной и связанной лямбда легкой цепи (2 мл)
 Номер по каталогу 220500 Антисыворотка к человеческой свободной каппа легкой цепи (2 мл)



Тел. +44 (0)191 482 8440
 Факс +44 (0)191 482 8442
 Эл. почта info@helena-biosciences.com
www.helena-biosciences.com

Helena Biosciences Europe Queensway South,
 Team Valley Trading Estate, Gateshead,
 Tyne and Wear, NE11 0SD, United Kingdom

Номер по каталогу 220600 Антисыворотка к человеческой свободной лямбда легкой цепи (2 мл)
 Номер по каталогу 220900 Антисыворотка пентавалентная к человеческому белку/альбумину в моче (2 мл)
 Номер по каталогу 221000 Антисыворотка пентавалентная к человеческому белку в моче (2 мл)
 Номер по каталогу 9249 Антисыворотка к IgD человека
 Номер по каталогу 9250 Антисыворотка к IgE человека
 Номер по каталогу 9400 Набор контролей IFE

ОТБОР И ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦОВ

Предпочтение следует отдать свежесобраным образцам сыворотки или мочи. Образцы сыворотки допускается хранить при температуре 15-30°C до 4-х дней, при 2-6°C до 2-х недель или 6 месяцев при -20°C⁶. Образцы мочи следует оставить неразбавленными. Образцы сыворотки следует развести с использованием разбавителя в соответствии со следующей таблицей:

Моноклональная концентрация	Дорожка SP	G, A, M, K, L
<3 г/л	1+2	Неразбавленный
3-10 г/л	1+2	1+4
10-25 г/л	1+2	1+9
25-50 г/л	1+2	1+19

ПОШАГОВАЯ ПРОЦЕДУРА

1. Пипетировать 35рл образца в соответствующую лунку поддона для образцов SAS-1 или в одноразовый колпачок для образцов.

i) **Пользователи SAS-1 и SAS-1 Plus:** Осторожно поместить поддон для образцов в ящик аппликатора. Установить поддон в соответствующее положение с применением нажатия.
 ii) **Пользователи SAS-3:** Осторожно поместить поддон для образцов при помощи позиционирующих штырьков для поддона с образцами. Убедитесь, что поддон надежно установлен.

2. Извлечь гель из упаковки и:

i) **Пользователи SAS-1:** поместить гель в SAS-1 стороной с агарозой вверх, соединив положительные и отрицательные стороны соответствующими стойками электродов.
 ii) **Пользователи SAS-1 Plus:** нанести 400рл REP Prep на теплоотвод. Поместить гель на теплоотвод стороной с агарозой вверх, совместив положительные и отрицательные стороны с соответствующими стойками электродов, при этом следует исключить попадание пузырьков воздуха под гель.
 iii) **Пользователи SAS-3:** поместить направляющую на штырьки и нанести 400рл REP Prep на центр камеры. Поместить гель в камеру стороной с агарозой вверх, с использованием направляющей, совместив положительные и отрицательные стороны с соответствующими стойками электродов, при этом следует исключить попадание пузырьков воздуха под гель.

3. Промокнуть поверхность геля промокательной бумагой C, утилизировать бумагу.



Тел. +44 (0)191 482 8440
 Факс +44 (0)191 482 8442
 Эл. почта info@helenabiosciences.com

www.helena-biosciences.com

Helena Biosciences Europe Queensway South,
 Team Valley Trading Estate, Gateshead,
 Tyne and Wear, NE11 0SD, United Kingdom

4. i) Пользователи SAS-1: подсоединить электроды к верхней части стоек электродов таким образом, чтобы они контактировали с блоками геля.
 ii) Пользователи SAS-1 Plus: (см. выше). Поместить крышку на гель и электроды и плотно прижать на 5 секунд для обеспечения контакта.
 iii) Пользователи SAS-3: подсоединить электроды к стойкам таким образом, чтобы они контактировали с блоками геля.

5. Установить в прибор 2 ножа аппликатора в сборе в соответствующую позицию (Пользователи SAS-3: слот A и 10).

6. Выполнить электрофорез с иммунофиксацией:

i) Пользователи SAS-1: 80 вольт, 20 минут

ii) Пользователи SAS-1 Plus: Электрофорез : 100 Вольт, 18 минут, 20°C.

Инкубация, шаг 1: 8 минут, 37°C (инкубировать)

Инкубация, шаг 2: 8 минут, 40°C (промокательная бумага D)

iii) Пользователи SAS-3:

Шаг	Время (мин:сек)	Температура (°C)	Напряжение	Другое
Загрузка образца	00:30	21		Скорость 1
Нанесение пробы	00:30	21		Скорость 1*
Электрофорез	17:00	21	100	
Применить антисыворотку	10:00	21		
Установить гребенки	02:00	21		
Промокательная бумага D	05:00	40		
Сушка	08:00	54		

*Использование помещения 2

ПРИМЕЧАНИЕ: Для иммунофиксации сыворотки необходимо 1 нанесение образца. Для иммунофиксации мочи требуются 10 нанесений образцов. Перед сушкой следует извлечь блоки геля.

7. По завершении электрофореза (Пользователи SAS-1 Plus: снять крышку), удалить электроды с поверхности геля. (Пользователи SAS-3: снять направляющую). Поместить шаблон антисыворотки на поверхность геля. **ПРИМЕЧАНИЕ:** Каналы для антисыворотки следует наложить на квадрат, отмеченный на геле, на который наносят образцы.

8. Нанести 2 капли (или 50µл) фиксирующего раствора для белков (сыворотка) или общей антисыворотки (моча) в верхнее отверстие дорожки SP и 2 капли (или 50µл) соответствующей антисыворотки в верхнее отверстие иммуноглобулиновых дорожек. Следует убедиться, что фиксирующий раствор и антисыворотка полностью заполнили каналы.



Тел. +44 (0)191 482 8440
 Факс +44 (0)191 482 8442
 Эл. почта info@helenabiosciences.com

www.helena-biosciences.com

Helena Biosciences Europe Queensway South,
 Team Valley Trading Estate, Gateshead,
 Tyne and Wear, NE11 0SD, United Kingdom

9. Инкубировать гель. (Пользователи SAS-1: инкубировать при 15-30°C).

10. По завершении инкубации поместить гребенку-блоттер в отверстия шаблона антисыворотки. Оставить на 2 минуты для абсорбции излишков антисыворотки, затем удалить гребенку и шаблон с поверхности геля

11. i) Пользователи SAS-1: удалить блоки геля с использованием средства для удаления блоков геля и промыть гель промывочным раствором в течение 5 минут.

ii) Пользователи SAS-1 и SAS-1 Plus: Поместить промокательную бумагу D (гладкой стороной вниз) на поверхность геля, оставить на 10 секунд и удалить.

12. i) Пользователи SAS-1: Поместить гель на промокательную бумагу D стороной с агарозой вверх. Поместить промокательную бумагу B (смоченную солевым раствором) на поверхность геля, затем положить два листа промокательной бумаги X. Оставить гель под прессом на 10 минут.

ii) Пользователи SAS-1 и SAS-1 Plus: Поместить промокательную бумагу D (гладкой стороной вниз) на поверхность геля и вновь положить шаблон антисыворотки, чтобы обеспечить горизонтальное положение промокательной бумаги. Выполнить абсорбцию геля.

13. i) Пользователи SAS-1: Удалить промокательную бумагу и поместить гель в промывочный раствор на 4 минуты, осторожно помешивая.

ii) Пользователи SAS-1 Plus и SAS-3: Удалить промокательную бумагу D.

14. i) Пользователи SAS-1: Извлечь гель из промывочного раствора и поместить на промокательную бумагу D стороной с агарозой вверх. Поместить промокательную бумагу B (смоченную промывочным раствором) на поверхность геля, затем положить промокательную бумагу D. Оставить под прессом на 3 минуты.

ii) Пользователи SAS-1 Plus и SAS-3: удалить блоки геля с использованием средства для удаления блоков геля. Перейти к шагу 16.

15. i) Пользователи SAS-1: Удалить всю промокательную бумагу. **ПРИМЕЧАНИЕ:** Сразу после использования необходимо очистить шаблон антисыворотки с применением мягкого биоцидного моющего средства. Если возможно, потрите дно шаблона зубной щеткой или маленькой щеткой для пробирок. Не допускайте высыхания антисыворотки на шаблоне. Отложения антисыворотки на поверхности шаблона приведут к образованию пузырьков воздуха во время выполнения шага нанесения антисыворотки. Необходимо тщательно высушить шаблон антисыворотки. Вода, оставшаяся в отверстиях, будет препятствовать нанесению антисыворотки в следующий раз. Хранить шаблон следует перевернутым вверх дном в целях улучшения циркуляции воздуха, и, тем самым, способствуя сушке аппликатора.

16. Установить гель в держатель камеры для окрашивания.

17. Выбрать программу IFE на приборе для окрашивания и, следуя указаниям программы, выполнить промывку, окрашивание, обесцвечивание и сушку геля.

a) SAS-2 (Прибор для автоматического окрашивания)

Шаг	Раствор	Время (мин:сек)	Порт	Температура (°C)
Сушка	---	10:00		55
Промывка	Промывочный раствор	07:00	4	
Окрашивание	Кислотный фиолетовый краситель	03:00	5	
Обесцвечивание	Обесцвечивающий раствор	02:00	2	
Сушка	---	05:00		65
Промывка	Промывочный раствор	03:00	4	
Промывка	Промывочный раствор	03:00	4	
Сушка	---	05:00		65

б) SAS-4 (Прибор для автоматического окрашивания)

Шаг	Время (мин:сек)	Температура (°C)	Другое
Промывка	00:03		Рециркуляция ВКЛ
Промывка	10:00		Рециркуляция ВКЛ
Окрашивание	04:00		Рециркуляция ВКЛ
Обесцвечивание	02:00		Рециркуляция ВКЛ
Обесцвечивание	02:00		Рециркуляция ВКЛ
Сушка	12:00	63	

с) Вручную

Следовать последовательности действий, указанной для прибора для автоматического окрашивания SAS-2, используя кювету для шагов фиксации, окрашивания, обесцвечивания и промывки, и сушильную печь с рециркуляцией воздуха и нагревом до 60-70°C для шагов сушки.

18. По окончании цикла окрашивания извлечь гель из камеры для окрашивания. Теперь гель готов для исследования.

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

При электрофорезе белков большая часть моноклональных белков мигрирует в катодный гамма-регион шаблона белков, однако вследствие аномальности их природы они могут мигрировать в любое место в рамках зоны глобулинов. Полоса моноклонального белка на паттерне иммунофиксации будет занимать ту же позицию и иметь ту же форму, что и аномальная полоса на паттерне белков сыворотки. Аномальный белок определяют по типу антисыворотки, с которой он вступает в реакцию.

При наличии низких концентраций аномального белка аномальная полоса может появиться в рамках нормального поликлонального иммуноглобулина. Полосу также можно будет увидеть на поликлональном фоне, где также присутствует значительное количество поликлонального иммуноглобулина.



Тел. +44 (0)191 482 8440
Факс +44 (0)191 482 8442
Эл. почта info@helena-biosciences.com
www.helena-biosciences.com

Helena Biosciences Europe Queensway South,
Team Valley Trading Estate, Gateshead,
Tyne and Wear, NE11 0SD, United Kingdom

Публикация "Immunofixation for the Identification of Monoclonal Gammopathies" доступна в Helena BioSciences по запросу.

Иммунофиксация мочи:

Тип протеинурии	Полосы, наблюдаемые на геле	Присутствующие белки
Нормальная моча	небольшая полоса альбумина	альбумин
Гломерулярная	альбумин, альфа-1, бета, гамма	альбумин, альфа-1, антитрипсин, трансферрин, гаммаглобулины
Тубулярная	альфа-1, альфа-2, бета	ретинол-связывающий белок, бета2-микроглобулин, альфа2-микроглобулин
Обильное выделение	гамма или различные	иммуноглобулины, свободные легкие цепи

ОГРАНИЧЕНИЯ

1. Излишек антигена

Излишек антигена происходит в случае отсутствия небольшого излишка антител или равенства антигена/антител на стадии осаждения. Излишек антигена при иммунофиксации обычно обусловлен избытком иммуноглобулина в образце пациента. Излишек антигена характеризуется прозоной (неокрашенными участками в центре иммунофиксированной полосы белка, с окраской по краям). В таком случае следует использовать более высокую степень разведения образца с целью оптимизации концентрации иммуноглобулина.

2. Неспецифическая преципитация во всех иммуноглобулиновых дорожках.

Иногда выполненный планшет IFE демонстрирует полосу преципитата в одной и той же позиции на каждом паттерне по всему планшету. Такая ситуация может возникнуть по нескольким причинам:

а) IgM моноклональные иммуноглобулины.

IgM моноклональные белки могут приклеиваться к матрице геля. Полоса появится во всех 5 дорожках антисыворотки на геле. Тем не менее, там где полоса вступает в реакцию со специфической антисывороткой к тяжелым цепям и легким цепям, будет отмечено увеличение размера и интенсивности окрашивания полосы, что позволит идентифицировать тип иммуноглобулина. Дополнительное разведение пробы улучшит различия между реакцией IgM антител и неспецифического окрашивания осажденного IgM белка в других дорожках, что упростит диагноз.

б) Высокие титры RF или иммунные комплексы.

Образцы с высокими титрами ревматоидного фактора или других иммунных комплексов могут демонстрировать полосу преципитата в одном и том же месте нанесения. Понижение концентрации образца с использованием DTT или бета-2-меркаптоэтанола может устранить данную неспецифическую реакцию. (Смешать 190μл разбавленной сыворотки с 10μл 1% (вес/объем) ВЕЕ в солевом растворе 0,85% или смешать 100μл сыворотки с 10μл водного раствора 1:10 β-2-меркаптоэтанола. Выполнить иммунофиксацию как обычно.



Тел. +44 (0)191 482 8440
Факс +44 (0)191 482 8442
Эл. почта info@helena-biosciences.com

www.helena-biosciences.com

Helena Biosciences Europe Queensway South,
Team Valley Trading Estate, Gateshead,
Tyne and Wear, NE11 0SD, United Kingdom

ПРИМЕЧАНИЕ: при использовании β -2-меркаптоэтанола обязательно использовать пароуловитель).

в) Фибриноген.

Фибриноген, если присутствует в пробе, продемонстрирует четкую полосу во всех дорожках паттерна иммунофиксации. Фибриноген присутствует в плазме, и иногда в сыворотке пациентов, проходящих антикоагуляционную терапию.

3. Реакции с антисывороткой к легким цепям каппа и лямбда, однако отсутствие реакции с IgG, IgA или антисывороткой к тяжелым цепям IgM.

Образцы, демонстрирующие подобный паттерн, либо характеризуются моноклональной гаммопатией со свободными легкими цепями, или содержат моноклональный белок IgD или IgE. В данной ситуации иммунофиксацию следует повторить, заменив антисывороткой к IgD и IgE две другие антисыворотки к тяжелым цепям. Невозможность получить реакцию с антисывороткой к IgD и IgE может указывать на болезнь свободных легких цепей.

4. Полоса в катодном конце гамма-участка показывает отсутствие реакции с антисывороткой IFE.

C-реактивный белок (CRP) может быть обнаружен у пациентов с острым воспалительным процессом.^{6,7} CRP появляется в виде широкой полосы в катодном конце шаблона белков сыворотки. Повышенные уровни альфа-1 – антитрипсин и гаптоглобина являются вспомогательными свидетельствами присутствия CRP. У пациентов с полосой CRP, возможно, будет выявлен повышенный уровень при тестировании на CPR. В некоторых случаях может быть видна узкая полоса в точке нанесения образца, что может быть обусловлено хиломикронами в сыворотке или осажденным белком в образцах, которые были заморожены.

5. Отсутствие реакции с каппа и лямбда антисывороткой.

Иногда образец может вступать в реакцию с тяжелой цепью антисыворотки, при этом не наблюдается реакции с легкой цепью. В такой ситуации необходимо исключить следующее: а) заболевание, связанное с тяжелыми цепями, б) очень большие концентрации легких цепей, что приводит к излишку антигена, в) низкие концентрации легких цепей, г) атипичная молекула легких цепей, которая не вступает в реакцию с антисывороткой, д) легкие цепи со «скрытыми» детерминантами легких цепей (что иногда наблюдается с IgA и IgD). Для получения определенных результатов тестирование может включать а) более высокую или низкую степень разбавления образца с целью оптимизации равенства антител/антигенов, б) использование антисыворотки более чем от одного производителя с целью облегчения идентификации атипичных иммуноглобулинов, и в) обработка образца β -2-меркаптоэтанолом с целью «обнаружения» легких цепей.

РАБОЧИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Ряд образцов были протестированы и подвержены сравнению с другим имеющимся в продаже тестовым набором – оба набора продемонстрировали одинаковые результаты.

БИБЛИОГРАФИЯ

1. Fauchier, P. and Catalan, F. 'Interpretive Guide to Clinical Electrophoresis' Alfred Fournier Institute, Paris, France, 1988.
2. Killingsworth, L.M., Cooney, S.K. and Tyllia, M.M. 'Finding Clues to Disease in Urine' Diagnostic Medicine, 1980 ; May/June : 69-75.



Тел. +44 (0)191 482 8440
Факс +44 (0)191 482 8442
Эл. почта info@helenabiosciences.com

www.helena-biosciences.com

Helena Biosciences Europe Queensway South,
Team Valley Trading Estate, Gateshead,
Tyne and Wear, NE11 0SD, United Kingdom

3. Umbreit, A. and Wiedemann, G. 'Determination of Urinary Protein Fractions. A Comparison With Different Electrophoretic Methods and Quantitatively Determined Protein Concentrations' *Clin. Chim. Acta.*, 2000; 297 : 163-172.
4. Wiedemann, G. and Umbreit, A. 'Determination of Urinary Protein Fractions by Different Electrophoretic Methods', *Clin. Lab.*; 1999, 45 : 257-262.
5. Wong, W.K., Wieringa, G.E., Stec, Z., Russell, J., Cooke, S., Keevil, B.G. and Lockhart, S. 'A Comparison of Three Procedures for the Detection of Bence-Jones Proteinuria' *Ann. Clin. Biochem.*, 1997, 34 : 371-374.
6. Afonso, E., 'Quantitation Immuno-electrophoresis of Serum Proteins', *Clin. Chim. Acta.*, 1964; 10 : 114-122.
7. Alper, C.A and Johnson, A.M., 'Immunofixation Electrophoresis: A Technique for the Study of Protein Polymorphism', *Vox. Sang.*, 1969; 17 : 445-452.
8. Alper, C.A., 'Genetic Polymorphism of Complement Components as a Probe of Structure and Function', *Progress in Immunology. First International Congress of Immunology.* 1971 : 609-624, Academic Press, New York.
9. Johnson, A.M., 'Genetic Typing of Alpha(1)-Antitrypsin in Immunofixation Electrophoresis. Identification of Subtypes of Pi M.', *J. Lab. Clin. Med.*, 1976; 87 : 152-163.
10. Cawley, L.P., Minard, B.J, Tourtellotte, W.W., Ma, B.I. and Chelle, C., 'Immunofixation Electrophoretic Technique Applied to Identification of Proteins in Serum and Cerebrospinal Fluid', *Clin. Chem.*, 1976; 22 : 1262-1268.
11. Ritchie, R.F and Smith, R. 'Immunofixation III, Application to the Study of Monoclonal Proteins', *Clin. Chem.*, 1976; 22 : 1982-1985.
12. Jeppsson, J.O., Laurell, C.B. and Franzen, B., 'Agarose Gel Electrophoresis', *Clin. Chem.*, 1979; 25 (4) : 629-638.
13. Killingsworth, L.M., Cooney, S.K. and Tyllia, M.M., 'Protein Analysis', *Diagnostic Medicine*, 1980; Jan/Feb:3-15.



Tel. +44 (0)191 482 8440
 Факс +44 (0)191 482 8442
 Эл. почта info@helena-biosciences.com

www.helena-biosciences.com

Helena Biosciences Europe Queensway South,
 Team Valley Trading Estate, Gateshead,
 Tyne and Wear, NE11 0SD, United Kingdom

Тест-система "Кислый гемоглобин" для SAS-MX, SAS-1, SAS-3 – (SAS-MX, SAS-1, SAS-3 "ACID HB Kit").

Инструкция по применению

НАЗНАЧЕНИЕ

Тест-система предназначена для разделения гемоглобинов человека методом электрофореза в агарозном геле.

Гемоглобины (Hb) представляют собой группу белков, основной функцией которых является транспортировка кислорода из легких к тканям, а углекислого газа – в обратном направлении. Они состоят из полипептидных цепей, называемых глобинами, и групп ферропротопорфирина (гемов). Специфическая последовательность аминокислот образует каждую из четырех полипептидных цепей. Каждая нормальная молекула гемоглобина состоит из одной пары альфа и одной пары отличных от альфа цепей. В гемоглобине здорового взрослого человека, HbA, цепи, отличные от альфа, именуются бета. Цепи фетального гемоглобина, отличные от альфа, именуются гамма. Незначительная (3%) фракция гемоглобина, имеваемая HbA₂, содержит альфа и дельта цепи. Две другие цепи формируются в эмбрионе.

Основную часть гемоглобина в эритроцитах здорового взрослого человека составляет HbA наряду с небольшими количествами HbA₂ и HbF. Кроме того, в настоящее время известны более 400 мутаций гемоглобинов, некоторые из которых могут оказывать серьезное клиническое воздействие, особенно в гомозиготном состоянии или в комбинации с другим аномальным гемоглобином. Уинтроб¹ (Wintrobe) подразделяет аномалии синтеза гемоглобина на три группы.

1. Производство аномальной молекулы белка (например, серповидноклеточная анемия).
2. Снижение объема синтеза нормального белка (например, талассемия).
3. Аномалии развития (например, наследственная персистенция фетального гемоглобина (HbF)).

Наиболее часто встречаются две мутации молекулы гемоглобина, HbS и HbC. Менее часто встречаются Hb Lepore, HbE, HbG-Philadelphia, HbD-Los Angeles, HbO-Arab.²

Электрофорез обычно считается наилучшим методом разделения и идентификации гемоглобинопатий. Протокол электрофореза гемоглобина включает поэтапное использование двух систем.³⁻⁸ Первичный электрофорез выполняется в щелочном буфере. Тем не менее, по причине электрофоретического сходства множества различных по структуре гемоглобинов, оценку следует дополнять электрофорезом в кислотном буфере, который предназначен для определения свойства, отличного от электрического заряда.

Данный метод основан на сложных взаимодействиях гемоглобина с кислым электрофоретическим буфером и агарозой основой. Процедура SAS-1 Acid Hb-12 является простой, требующей минимальных количеств гемолизата для обеспечения полной визуализации процедурой (наряду с результатами анализа SAS-1 Acid Hb-12) в присутствии HbS, HbC и HbF, а также ряда других аномальных гемоглобинов.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Все реагенты предназначены только для диагностического использования в условиях *in-vitro*. Не глотать и не пипетировать ртом ни один компонент набора. Надевать перчатки при



Тел. +44 (0)191 482 8440
Факс +44 (0)191 482 8442
Эл. почта info@helena-biosciences.com

www.helena-biosciences.com

Helena Biosciences Europe Queensway South,
Team Valley Trading Estate, Gateshead,
Tyne and Wear, NE11 0SD, United Kingdom

работе со всеми компонентами набора. См. паспорт безопасности химического вещества, положения о рисках и обеспечении безопасности, а также информацию об утилизации.

СОСТАВ

1. Гель SAS-1 Acid Hb

Содержит агарозу в Цитрат/Малеат буфере с азидом натрия в качестве консерванта. Гель упакован и готов к употреблению.

2. Фиолетово кислый краситель, концентрат

Содержит концентрированный Фиолетово кислый краситель. Довести содержимое бутылки до 700 мл с использованием очищенной воды. Перемешать, оставить на ночь, отфильтровать перед использованием. Хранить в бутылки с плотно закрывающейся крышкой.

3. Лизирующий агент для гемоглобина

Содержит Triton X-100 в очищенной воде с цианидом калия и тиомерсалом в качестве консерванта. Лизирующий агент готов к употреблению.

4. Другие компоненты набора

Каждый набор содержит инструкцию по применению и достаточное количество промокатальной бумаги и блоттеров C для выполнения 10 гелей.

УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И СРОК ГОДНОСТИ

1. Гель SAS-1 Acid Hb

Гель следует хранить при температуре 15-30°C, в этом случае гели сохраняют стабильность до окончания срока годности, указанного на упаковке. **НЕ ОХЛАЖДАТЬ И НЕ ЗАМОРАЖИВАТЬ.** Испорченный гель можно определить по следующим признакам: 1) кристаллический внешний вид, который указывает на то, что гель был заморожен; 2) ломкость и отслаивание, свидетельствующие о высыхании геля; 3) видимое загрязнение агарозы бактериальными или грибковыми источниками.

2. Краситель Фиолетово-кислый

Концентрат красителя следует хранить при температуре 15-30°C, в этом случае он сохраняет стабильность до окончания срока годности, указанного на ярлыке. Раствор красителя стабилен в течение 6 месяцев при температуре 15-30°C. Рекомендуется незамедлительно утилизировать использованный краситель в целях предотвращения снижения окрашивающей способности. Низкая эффективность окрашивания может указывать на порчу раствора красителя.

3. Лизирующий агент для гемоглобина

Лизирующий агент следует хранить при температуре 15-30°C, в этом случае он сохраняет стабильность до окончания срока годности, указанного на ярлыке. О порче могут свидетельствовать инородные включения или помутнение.

НЕОБХОДИМЫЕ КОМПОНЕНТЫ, НЕ ВКЛЮЧЕННЫЕ В НАБОР

Номер по каталогу 210200 Аппликаторы (1 x 10)

Номер по каталогу. 210300 Аппликаторы (5 x 10)

Номер по каталогу 210100 Ячейки для проб (100)

Номер по каталогу 310907 SP100 Штатив

Номер по каталогу 3100 REP Prep

Сушильная печь с принудительным движением воздуха, нагрев до 60-70°C



Тел. +44 (0)191 482 8440
Факс +44 (0)191 482 8442
Эл. почта info@helenabiosciences.com

www.helena-biosciences.com

Helena Biosciences Europe Queensway South,
Team Valley Trading Estate, Gateshead,
Tyne and Wear, NE11 0SD, United Kingdom

Фиксирующий/окрашивающий раствор: Смешайте 50 мл ледяной уксусной кислоты и 950 мл очищенной воды. Хранить в закрытой крышечкой бутылке.

Физиологический раствор (0,85% NaCl)

Очищенная вода

ОТБОР И ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦОВ

Предпочтение следует отдать свежесобранной в ЭДТА или антикоагулированной с использованием гепарина крови. Образцы допускается хранить в охлажденном виде при температуре 2-6°C сроком до 1 недели. Для достижения оптимальных результатов отмытые солевым раствором эритроциты следует использовать для приготовления лизатов. Таким образом, исключается возможная интерференция с белками плазмы.

а) Смешать 200μл хорошо перемешанной цельной крови со 1000 μл солевого раствора.

б) Центрифугировать в целях получения осадка эритроцитов.

в) Удалить 1000μл надосадочной жидкости и утилизировать ее.

г) Добавить еще 1000μл солевого раствора и хорошо перемешать.

д) Повторить шаги б-д 2 раза.

е) После последнего центрифугирования удалить 1000μл надосадочной жидкости и работать с оставшимся образцом как с цельной кровью, или удалить всю надосадочную жидкость и работать с оставшимся образцом как с отмытыми осажденными эритроцитами.

Разведите каждую пробу контроля/пациента до концентрации гемоглобина 1,0 - 2,0 гемоглобин лизирующим агентом.

ПОШАГОВАЯ ПРОЦЕДУРА

1. Отберите с помощью пипетки 35μl пробы и поместите ее в ячейки для образцов.

i) Для пользователей SAS-1 & SAS-1: Осторожно поместите штатив для образцов в соответствующий адаптер. Установить адаптер со штативом в правильном положении.

ii) Пользователи SAS-3: Используйте адаптер для штатива SP100. Осторожно поместите штатив для образцов в соответствующий адаптер. Убедитесь, что штатив надежно установлен.

2. Извлеките гель из упаковки и:

i) Пользователи SAS-1 Plus: нанести 400μl REP Rter на зону проведения электрофореза. Поместить гель агарозой вверх, совместив положительные и отрицательные стороны с соответствующими полярностями электродов, при этом следует исключить попадание пузырьков воздуха под гель.

ii) Пользователи SAS-3: поместить адаптер на штырьки и нанести 400μl REP Rter в центр камеры. Поместить гель в камеру стороной с агарозой вверх, с использованием направляющей, совместив положительные и отрицательные стороны с соответствующими полярностями электродов, при этом следует исключить попадание пузырьков воздуха под гель.

Поместите одну полоску блоттера рядом с буферным блоком с внешней стороны от катодного электрода и одну полоску блоттера с внешней стороны от анодного электрода. Это необходимо для устранения избытка жидкости, которая будет выделяться при электрофорезе. Полоска блоттера не должна контактировать с гелем.

3. Промокнуть поверхность геля блоттером С, утилизировать бумагу.



Тел. +44 (0)191 482 8440
Факс +44 (0)191 482 8442
Эл. почта info@helena-biosciences.com

www.helena-biosciences.com

Helena Biosciences Europe Queensway South,
Team Valley Trading Estate, Gateshead,
Tyne and Wear, NE11 0SD, United Kingdom

4. i) **Пользователи SAS-1 Plus:** подсоединить электроды к верхней части стоек электродов таким образом, чтобы они контактировали с буферными блоками геля. Прижмите гель крышкой на 5 секунд для обеспечения лучшего контакта.

ii) **Пользователи SAS-3:** подсоединить электроды к верхней части стоек электродов таким образом, чтобы они контактировали с буферными блоками геля.

5. Установить в прибор 1 аппликатор в нижнюю позицию на анализаторе (**Пользователи SAS-3: слот 9**)

6. Выполните электрофорез Acid Haemoglobin:

i) **Пользователи SAS-1 Plus:** Электрофорез: 60 вольт, 22 минуты, 18°C, 2 аппликатора.

ii) **Пользователи SAS-3:**

Step	Time (mm:ss)	Temperature (°C)	Voltage	Other
Load Sample	00:30	18		Speed 6
Apply Sample	00:30	18		Speed 6*
Repeat steps 'load sample, apply sample' for a total of 2 applications.				
Electrophoresis	14:00	18	100	
Dry	08:00	62		
Use Location 2				

NOTE: Remove gel blocks prior to drying.

7. По завершении электрофореза, удалить электроды и оба буферных блока с поверхности геля используя соответствующую лопаточку.

8. Закрепите гель в соответствующий держатель геля, который используется для окрашивания.

9. Выберите Acid Haemoglobin в программном меню и установите все значения, которые приведены ниже:

a) **SAS-2 (Автоматическое окрашивание)**

Step	Solution	Time (mm:ss)	Port	Temperature (°C)
Fix	Fixative / Destain solution	05:00	4	
Stain	Acid Violet	15:00	5	
Destain	Fixative / Destain solution	00:10	4	
Dry	—	15:00		65
Destain	Fixative / Destain solution	02:00	4	
Destain	Fixative / Destain solution	02:00	4	
Wash	Purified water	01:00	1	
Dry	—	15:00		65

b) **SAS-3 пользователи (Ручное)**

Следуйте последовательности действий, указанной для прибора для автоматического окрашивания SAS-2, используя лоток для окрашивания, фиксации, обесцвечивания и промывки, и сушильную печь с температурой 60-70 °C для шагов сушки.



Тел. +44 (0)191 482 8440
Факс +44 (0)191 482 8442
Эл. почта info@helena-biosciences.com

www.helena-biosciences.com

Helena Biosciences Europe Queensway South,
Team Valley Trading Estate, Gateshead,
Tyne and Wear, NE11 0SD, United Kingdom

10. В конце цикла окрашивания, удалите гель из камеры для окрашивания. Гель готов к рассмотрению.

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Качественная оценка:

Возможные отличительные черты типов гемоглобина, присутствующих в пробах, могут быть определены посредством визуальной оценки выполненного геля. Гематологические контроли представляют собой маркер для идентификации полос.

На Рис. 1 показана возможная идентификация наиболее часто встречающихся типов гемоглобина.

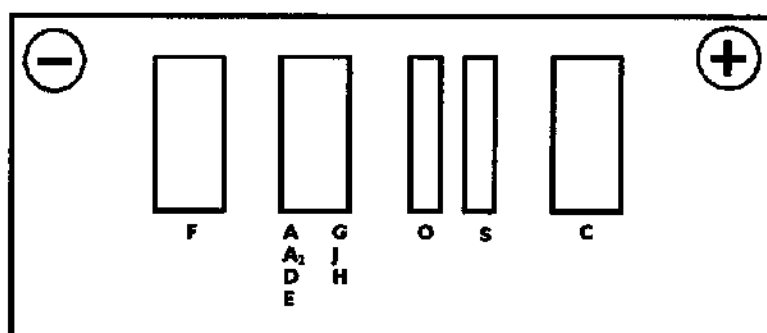


FIG. 1

Большинство вариаций гемоглобина не вызывают каких-либо очевидных клинических симптомов, поэтому они представляют интерес главным образом для ученых и исследователей. Вариации являются клинически значимыми, когда их присутствие обуславливает появление таких нарушений как выработка серповидных форм, синдромы талассемии, стойкий цианоз, гемолитические анемии или эритроцитоз, или если преобладание гетерозиготы таково, что обуславливает необходимость медико-генетического консультирования. Комбинации HbS-S, HbS-D-Los Angeles, HbS-O-Arab обуславливают серьезные нарушения, связанные с выработкой серповидных форм². Несколько вариаций, включая HbH, E-Fort Worth и Lepore, обуславливают талассемическую картину крови².

Две вариации гемоглобинов, характеризующихся наибольшей значимостью в плане частоты выявления и патологий, - это HbS и HbC². Серповидно-клеточная анемия (HbSS) является тяжелой и смертельной болезнью. Она впервые проявляет себя в возрасте 5-6 месяцев. Клиническое течение характеризуется мучительными эпизодами боли и повышения температуры с анемией, вялостью, летаргией и инфарктом практически всех органов тела. Человек с гомозиготной HbCC страдает умеренной гемолитической анемией, которую связывают с осаждением или кристаллизацией HbC в эритроцитах. Случаи заболевания HbSC характеризуются гемолитической анемией, которая протекает менее остро, чем серповидно-клеточная анемия.



Тел. +44 (0)191 482 8440
Факс +44 (0)191 482 8442
Эл. почта info@helena-biosciences.com
www.helena-biosciences.com

Helena Biosciences Europe Queensway South,
Team Valley Trading Estate, Gateshead,
Tyne and Wear, NE11 0SD, United Kingdom

Талассемии представляют собой группы гемоглобинопатий, характеризующихся гипохромией и микроцитозом вследствие снижения синтеза одной цепи глобинов (альфа или бета), в то время как синтез других цепей происходит нормально.^{9,10} Такой несбалансированный синтез приводит к нестабильности глобиновых цепей. Они осаждаются в эритроцитах, формируя инородные включения, которые сокращают жизненный цикл клеток. При альфа-талассемии сокращено количество или наблюдается отсутствие альфа-цепей, а при бета-талассемии вышесказанное касается бета-цепей. Другое количественное нарушение синтеза гемоглобина, наследственная персистенция фетального гемоглобина (HbF), представляет собой генетическое нарушение работы механизмов, которые отключают синтез гамма-цепей в возрасте около 4-х месяцев от рождения, что приводит к постоянному высокому процентному содержанию HbF. В отличие от действительных талассемий это менее опасное состояние, и лица, гомозиготные к HbF, развиваются нормально, асимптоматичны и не имеют анемии.¹⁰

Наиболее часто встречающиеся гемоглобинопатии:

1) Серповидно-клеточный признак

Это гетерозиготное состояние, характеризующееся HbA и HbS и нормальным количеством HbA2 на ацетатцеллюлозе. Результаты на цитратном агаре показывают гемоглобины в миграционных позициях (зонах) HbA и HbS.

2) Серповидно-клеточная анемия

Это гомозиготное состояние, характеризующееся практически исключительно HbS, при этом может присутствовать незначительное количество HbF.

3) Серповидная-С болезнь

Это гетерозиготное состояние, характеризующееся HbS и HbC.

4) Серповидно-клеточная болезнь – талассемия

Данное состояние характеризуется HbA, HbF, HbS и HbA2.

При серповидно-клеточной болезни β^0 -талассемии отсутствует HbA.

При серповидно-клеточной болезни β^+ -талассемии HbA присутствует в ограниченных количествах.

5) Болезнь талассемия-С

Данное состояние характеризуется HbA, HbF, HbC.

6) С-болезнь

Это гомозиготное состояние, демонстрирующее практически исключительно HbC.

7) Большая талассемия

Данное состояние характеризуется HbF, HbA и HbA2.

ОГРАНИЧЕНИЯ

Некоторые аномальные гемоглобины имеют сходную электрофоретическую подвижность, и их следует дифференцировать другими методами.

Дальнейшего тестирования требуют:

1. Анализ глобиновых цепей (как кислотных, так и щелочных), а также структурные исследования могут быть необходимы в целях положительной идентификации некоторых более редко встречающихся гемоглобинов.

2. Анионообменная колонная хроматография является наиболее точным методом количественного определения HbA2. Рекомендуются метод Helena BioSciences Sickle-Thal



Тел. +44 (0)191 482 8440
Факс +44 (0)191 482 8442
Эл. почта info@helena-biosciences.com

www.helena-biosciences.com

Helena Biosciences Europe Queensway South,
Team Valley Trading Estate, Gateshead,
Tyne and Wear, NE11 0SD, United Kingdom

Quick Column (Номер по каталогу 5334) для количественного определения HbA2 в присутствии HbS, рекомендуется использовать Helena BioSciences Beta-Thal HbA2 Quick Column (Номер по каталогу 5341). Количественное определение HbA2 является одним из наиболее важных диагностических тестов при диагностировании признака бета-талассемии. 3. Количественное определение низких уровней HbF (1-10%) можно с высокой степенью точности выполнить методом радиальной иммунодиффузии с использованием процедуры Helena BioSciences HbF-QuiPlate (Номер по каталогу 9325).

РЕФЕРЕНСНЫЕ ЗНАЧЕНИЯ

При рождении большая часть гемоглобина в эритроцитах здорового индивидуума представляет собой фетальный гемоглобин, HbF. Также присутствует некоторое количество основного типа гемоглобина взрослого человека, HbA, и малое количество HbA2. На конец первого года жизни и в течение всей взрослой жизни основной тип гемоглобина – это HbA, на фоне до 3,7% HbA2 и менее 2% HbF.

РАБОЧИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

а) ВОСПРОИЗВОДИМОСТЬ

SAS-1 Acid Hb гель предназначен для качественной идентификации полос гемоглобина. Использование контрольных материалов, содержащих гемоглобины S и A2, те же структуры группы были замечены в пределах одного геля, а также между различными гелями. Полосы не пропадали и не появлялись никакие дополнительные полосы между анализами.

б) ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ

0.08 g/dL на полосу, определяется как минимальная концентрация гемоглобина, который был замечен, как дискретная группа по завершению анализа геля.

с) ЛИНЕЙНОСТЬ

4 g/dL на полосу, для каждого диапазона, основанна на максимальной концентрации гемоглобина в группе, которая позволяет отделить полосы друг от друга, без белка. Эта процедура не предназначена для сканирования на денситометре.

ЛИТЕРАТУРА

1. Wintrobe, Maxwell M., *Clinical Hematology*, 6th Edition, Lea and Febiger, Philadelphia, 1967. pages 145-167.
2. Fairbanks, V.F., 'The Nomenclature and Taxonomy of Hemoglobin Variants', *Diagnostic Medicine*, Nov/Dec., 53-58, 1980.
3. Schneider, R.G., Hightower, B.J. and Barwick, R.C., 'Laboratory Identification of the Hemoglobins', *Lab Management*, 1981; August: 29-43.
4. Center for Disease Control, *Laboratory Methods for Detecting Hemoglobinopathies*, U.S. Department of Health and Human Services/Public Health Service, 1984.
5. Schneider, R.G., 'Methods for Detection of Hemoglobin Variants and Hemoglobinopathies in the Routine Clinical Laboratory', *CRC Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences*, 1978.
6. Schneider, R.G., Hightower, B., Hosty, T.S., Ryder, H., Tomlin, G., Atkins, R., Brimhall, B., and Jones, R.T., 'Abnormal Hemoglobins in a Quarter Million People', *Blood*, 1976; 48(5) : 629-637.
7. Huisman, T.H.J. and Schroeder, W.A., 'New Aspects of the Structure, Function and Synthesis of Hemoglobins', *CRC Press, Cleveland*, 1971.
8. Schmidt, R.M., Huisman, T.H.J., and Lehmann, H., *The Detection of Hemoglobinopathies*. CRC Press, Cleveland, 1974.
9. Weatherall, D.J. and Clegg, J.B., *The Thalassemia Syndromes*, Blackwell Scientific Publications, Oxford, 1972.
10. Lehman, H. and Huntsman, R.G., *Man's Haemoglobins*, J.B. Lippincott Co., Philadelphia, 1974.



Тел. +44 (0)191 482 8440
Факс +44 (0)191 482 8442
Эл. почта info@helena-biosciences.com

www.helena-biosciences.com

Helena Biosciences Europe Queensway South,
Team Valley Trading Estate, Gateshead,
Tyne and Wear, NE11 0SD, United Kingdom

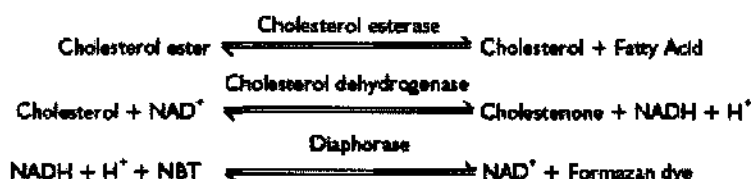
Тест-система "ЛВП-холестерин-10" для прибора SAS-MX (SAS-MX "HDL 10"),

Тест-система "ЛВП-холестерин-12" для прибора SAS-1 (SAS-1 HDL-12 Kit),

Тест-система "ЛВП-холестерин" для прибора SAS-3 (SAS-3 HDL Kit)

НАЗНАЧЕНИЕ

Тест-система позволяет разделить в сыворотке крови липопротеины в соответствии с их зарядом в агарозном геле. Фракции липопротеидов затем визуальнo рассматривают при инкубации с реагентом холестерина, количественно определяют холестерин и эфиры холестерина в соответствии со следующей последовательностью реакций:



Альфа-фракция мигрирует быстрее всего к аноду и соответствуют ЛВП. Следующая фракция – пре-бета, она соответствует липопротеинам очень низкой плотности (ЛОНП) и медленно мигрирующая бета-группа соответствует ЛНП. Отношения ЛВП холестерина играют важную роль при ишемической болезни сердца (ИБС), сообщает Барр и др., а также Миллер в 1951¹ и Миллер в 1975². Работы Каstellи и др.³⁻⁶ сосредоточили внимание на ЛВП холестерина для лабораторной оценки определения риска ИБС. Клинические рекомендации Национальной образовательной программы по холестерину (NCEP) дают рекомендации клиническим лабораториям провести определение Общего холестерина, ЛВП и ЛНП холестерина и триглицеридов. ЛНП, как уже подтверждено это этерогенные липопротеиды на основе содержания холестерина и являются главной основой для решений относительного лечения по рекомендациям NCEP⁷.

Компания Helena Biosciences производит HDL холестерин на SAS-3, метод демонстрирует хорошее разделение основных классов липопротеннов, четкое и точное количественное определение холестерина ЛПВП в сравнении с эталонными методами.

ПРЕДОСТЕРЕЖЕНИЯ И МЕРЫ БЕЗОПАСНОСТИ

Все реагенты предназначены для использования только в лабораторных условиях.

Не глотайте реактивы и не пытайтесь набирать их при помощи рта. При работе надевайте перчатки. За информацией по охране труда и утилизации обращайтесь к спецификации по технике безопасности.

СОСТАВ РЕАГЕНТОВ

1. SAS-3 HDL холестерин, гели

Содержит агарозу на основе трис/барбитал буфера с азидом натрия и тиомерсалом в качестве консервантов. Гель упакован в готовом к использованию виде.



Тел. +44 (0)191 482 8440
Факс +44 (0)191 482 8442
Эл. почта info@helena-biosciences.com
www.helena-biosciences.com

Helena Biosciences Europe Queensway South,
Team Valley Trading Estate, Gateshead,
Tyne and Wear, NE11 0SD, United Kingdom

2. Холестериновый реагент

Содержит компоненты, необходимые для определения холестерина в зависимости от последовательности реакции, указанной выше.

3. Холестерин дилуэнт

Содержит Тритон X-100 и консерванты. Раствор упакован в готовом к использованию виде.

4. Другие компоненты набора

Каждый набор включает инструкцию по эксплуатации и достаточное количество блоттеров С в расчете на 10 гелей.

ХРАНИЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ РЕАГЕНТОВ

1. SAS-3 HDL холестерин, гели

Гели должны храниться при температуре +15...30°C, стабильность сохраняется до истечения срока годности, указанного на упаковке. **НЕ ОХЛАЖДАЙТЕ И НЕ ЗАМОРАЖИВАЙТЕ ГЕЛИ!** О порче геля свидетельствует: 1) появление кристаллических структур, указывающих на факт замораживания геля; 2) растрескивание и расслаивание, сопровождающее высыхание геля; 3) видимая бактериальная или грибковая контаминация агарозы.

2. Холестериновый реагент

Флаконы реагента должны храниться при температуре 2 ... 6 °C и стабильны до срока годности, указанного на этикетке. Растворенный реагент стабилен в течение 6 часов при температуре 2 ... 6 °C.

3. Холестерин дилуэнт

Дилуэнт следует хранить при температуре 2 ... 6 °C, в этом случае он устойчив до истечения срока годности, указанного на этикетке.

Избегайте контаминации. Мутность и инородные включения могут указывать на ухудшение реагента.

ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЕ НЕОБХОДИМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

ССat. № 310200 аппликаторы (1 x 10)

Cat. № 310300 аппликаторы (5 x 10)

Cat. № 210100 одноразовых ячейки для образцов (100)

Cat. № 3386 SAS-3 распределитель реагентов

Cat. № 3100 теплоотводящая жидкость

ОБЕСЦВЕЧИВАЮЩИЙ РАСТВОР: смешайте 250 мл ледяной уксусной кислоты и 4750ml очищенной воды. Хранить в плотно закрытой бутылке.

Дистиллированная вода

СБОР И ПРИГОТОВЛЕНИЕ ОБРАЗЦОВ

Предпочтительными образцами являются свежая сыворотка или плазма (с использованием ЭДТА в качестве антикоагулянта). Образцы могут храниться при температуре +2...6°C в течение 4 дней. **НЕ ЗАМОРАЖИВАЙТЕ ОБРАЗЦЫ!**

Подготовка пациента:

Если HDL холестерин является единственным параметром, который будет определяться, больной не должен придерживаться диеты.

Если другие значения липидов будут также определены, то пациент должен придерживаться диеты:

1) Обеспечить предварительное голодание пациента в течение 12-14 часов перед



Тел. +44 (0)191 482 8440
Факс +44 (0)191 482 8442
Эл. почта info@helenabiosciences.com
www.helenabiosciences.com

Helena Biosciences Europe Queensway South,
Team Valley Trading Estate, Gateshead,
Tyne and Wear, NE11 0SD, United Kingdom

получением образца для предотвращения интерференции с хиломикронами, индуцирующимися пищей.

- 2) Отменить прием всех лекарств на 3-4 недели, если это возможно.
- 3) В течение 1 недели пациент должен поддерживать стабильный вес и придерживаться нормальной диеты.
- 4) В случае перенесения инфаркта миокарда или схожего травматического события требуется выждать 4-8 недель, прежде чем проводить анализ.

Факторы, препятствующие точному анализу:

- 1) Гепариновая терапия может привести к изменениям в подвижности липопротеинов, в частности β -ЛП.
- 2) По тем же причинам гепарин не может использоваться в качестве антикоагулянта при получении образцов плазмы.

ПОЭТАПНАЯ ПРОЦЕДУРА

1. Запрограммируйте, как показано ниже следующие параметры в анализатор:

Step	Time (min:ss)	Temperature (°C)	Voltage	Other
Electrophoresis				
Load Sample	00:30	21		Speed 6
Apply Sample	01:00	21		Speed 6 *
Repeat 'load sample, apply sample' for a total of 2 applications.				
Electrophoresis	15:00	20	400	
Apply Reagent		21		4 Cycles
Incubate	20:00	30		

* - Use Location 1 for SPIFE 2000 and SAS-3

Stainer			
Destain	15:00		Recirculate ON
Wash	15:00		Recirculate ON
Dry	40:00	63	

2. Установите правильное количество аппликаторов в соответствующие позиции анализатора:

Number of Samples	Applicator Position	
	SPIFE Combo	SPIFE 2000 / 3000 / SAS-3
60	2, 9, 16	2, 9, 14
40	2, 9	2, 8
20	2	2

3. i) SPIFE Combo пользователи: отберите пипеткой 50 μ l образца в соответствующие ячейки для образцов.

Накройте образцы для предотвращения испарения.

- II) SPIFE 2000/3000/SAS-3 пользователи: отберите пипеткой 35 μ l образца в соответствующие ячейки для образцов. Накройте образцы для предотвращения испарения.

4. Приготовьте 1 флакон с реагентом холестерина, добавив 2,5 мл дилуэнта для разведения холестерина и хорошо перемешайте:

- i) SPIFE Combo/2000 пользователи: сохраните для использования после электрофореза.

- II) SPIFE 3000/SAS-3 пользователи: поместите флакон в центральный реагентный слот.

5. Удалите гель из упаковки и снимите защитную пленку.

6. Нанесите 2 мл теплоотводящей жидкости на левую сторону камеры и осторожно



Тел. +44 (0)191 482 8440
Факс +44 (0)191 482 8442
Эл. почта info@helena-biosciences.com
www.helena-biosciences.com

Helena Biosciences Europe Queensway South,
Team Valley Trading Estate, Gateshead,
Tyne and Wear, NE11 0SD, United Kingdom

- поместите гель в камеру, совмещая отверстия на геле с соответствующими пазами в камере, избегайте образование пузырей под гелем. Прикрепите электроды на внешней стороне электрододержателя так, чтобы они находились в контакте с буферными блоками гелей.
7. Поместите блот на поверхность, используйте блоттер С, не накрывайте крышкой.
 8. Выберите программу, HDL тест и, следуя подсказкам, поместите образцы и выполните электрофорез, затем проинкубируйте гель с реагентом.
 9. SPIFE Combo/2000 пользователи: поместите содержимое флакона холестерина вдоль одного края геля. Используйте разбрызгиватель реагента, распределяя реагент по поверхности геля, распределите реагент два раза, чтобы обеспечить равномерное покрытие.
 10. После инкубации удалите электроды и удалите буферные блоки с поверхности геля, используйте специальную лопатку.
 11. Прикрепите гель для окрашивания на держатель.
 12. Выберите программу для окрашивания, HDL тест, и, следуя подсказкам, выполните окрашивание, обесцвечивание, промывку и сушку геля.
 13. В конце цикла окрашивания, удалите гель из камеры. Гель готов к рассмотрению.

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Рекомендуется проводить оценку результатов в сравнении с нормальными значениями, получаемыми данным методом в соответствующей лаборатории. Гели могут быть отсканированы при длине волны 525 нм агарозой вниз.

Принятие решений о тактике лечения приводятся в рекомендациях NCEP и главным образом основываются на уровне LDL холестерина¹:

Total Cholesterol		
Desirable blood cholesterol	< 200 mg/dL	
Borderline-High blood cholesterol	200-239 mg/dL	
High blood cholesterol	≥ 240 mg/dL	
HDL Cholesterol		
Low HDL cholesterol	< 35 mg/dL	
Protective HDL cholesterol	≥ 60 mg/dL	
Triglycerides		
Desirable	< 250 mg/dL	
Borderline	250-500 mg/dL	
Elevated	500-1000 mg/dL	
Severely elevated/pancreatitis	> 1000 mg/dL	
LDL Cholesterol		
Dietary Therapy	Initiation Level	LDL Goal
Without CHD and <2 risk factors	≥ 160 mg/dL	< 160 mg/dL
Without CHD and ≥ 2 risk factors	≥ 130 mg/dL	< 130 mg/dL
With CHD	≥ 100 mg/dL	≤ 100 mg/dL
Drug Therapy		
Without CHD and <2 risk factors	≥ 190 mg/dL	< 160 mg/dL
Without CHD and ≥ 2 risk factors	≥ 160 mg/dL	< 130 mg/dL
With CHD	≥ 130 mg/dL	≤ 100 mg/dL

Факторы риска рассматриваемые в схеме классификации: возраст (мужчины > 45 лет, женщины > 55 лет), семейный анамнез преждевременного ИБС, курение, гипертония и



Тел. +44 (0)191 482 8440
Факс +44 (0)191 482 8442
Эл. почта info@helena-biosciences.com
www.helena-biosciences.com

Helena Biosciences Europe Queensway South,
Team Valley Trading Estate, Gateshead,
Tyne and Wear, NE11 0SD, United Kingdom

сахарный диабет. ЛВП холестерина считается высоким риском если уровень < 35 мг/дл и учитывается как фактор риска в классификации. ЛВП холестерин > 60 мг/дл считается защитным уровнем и его вычитают из общего числа факторов риска.

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Для контроля правильности выполнения всех этапов методики рекомендуется использовать Control HDL холестерин (кат. ном. 3189) при каждом запуске. Допустимые результаты анализа указаны во вкладыше, поставляемом вместе с контролем в упаковке.

КОНТРОЛЬНЫЕ ЗНАЧЕНИЯ

Использовано 14 образцов взятых от нормальных доноров мужчин и женщин с общим уровнем холестерина менее 200 mg/dL, были получены следующие диапазоны референсных значений (они представлены только в качестве ориентира):

Protein Fraction	Mean (%)	± 2SD Range
HDL	28.3	11.1 - 45.5
VLDL	3.1	0.0 - 7.3
LDL	68.6	52.2 - 85

ТЕХНИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

1) Точность

Band	Within-Run (n = 30)			Between Run (n = 90)		
	Mean	SD	CV (%)	Mean	SD	CV (%)
HDL	29.6	0.9	3.2	29.6	1.3	4.4
LDL	66.9	1.0	1.4	66.9	1.3	2.0
VLDL	3.4	0.1	3.6	3.5	0.1	3.8

Чувствительность

Серийные разведения высокого уровня холестерина в образцах показали чувствительность системы, которая эквивалентна 9,7 мг/дл холестерина на каждую фракцию.

Линейность

Серийные разведения высокого уровня холестерина в образцах показали, что система линейна до 400 мг/дл холестерина на каждую фракцию.

ЛИТЕРАТУРА

1. Barr, D.P. et al 'Protein-lipid Relationships in Human Plasma', *Am. J. Med.*, 1951 ; 11 : 480-493.
2. Miller, G.J and Miller, N.E. 'Plasma-High Density-Lipoprotein Concentration and Development of Ischemic Heart Disease', *Lancet*, 1976 ; 1 : 16-19.
3. Kannel, W.B. et al 'Serum Cholesterol, Lipoproteins and the Risk of Coronary Heart Disease' *Ann. Inter. Med.*, 1971 ; 74 (1) : 1-12.
4. Gordon, T. et al 'High Density Lipoprotein as a Protective Factor Against Coronary Artery Disease. The Framingham Study', *Am. J. Med.*, 1977 ; 62 : 707-714.
5. Galen, R.S. 'HDL Cholesterol, How Good a Risk Factor?', *Diag. Med.*, 1979 ; Nov/Dec : 39-58.
6. Castelli, W.P. et al. 'HDL Cholesterol and Other Lipids in Coronary Heart Disease - The Cooperative Lipoprotein Phenotyping Study' *Circulation*, 1977 ; 55 (5) : 767-772.
7. National Cholesterol Education Program, Second report of the expert panel on detection, evaluation and treatment of high blood cholesterol in adults (Adult Treatment Panel II). NCEP 1993.



Тел. +44 (0)191 482 8440
Факс +44 (0)191 482 8442
Эл. почта info@helenabiosciences.com
www.helenabiosciences.com

Helena Biosciences Europe Queensway South,
Team Valley Trading Estate, Gateshead,
Tyne and Wear, NE11 0SD, United Kingdom

The logo for Helena Biosciences, featuring the word "helena" in a lowercase serif font, with "BIOSCIENCES" in a smaller, uppercase sans-serif font underneath.

Тел. +44 (0)191 482 8440
Факс +44 (0)191 482 8442
Эл. почта info@helena-biosciences.com
www.helena-biosciences.com

Helena Biosciences Europe Queensway South,
Team Valley Trading Estate, Gateshead,
Tyne and Wear, NE11 0SD, United Kingdom

Тест-система "Липопротеины" для приборов SAS-MX, SAS-1, SAS-3 (SAS-MX, SAS-1, SAS-3 "LIPO Kit").

НАЗНАЧЕНИЕ

Тест-система предназначена для разделения и количественного анализа липопротеинов сыворотки или плазмы с помощью электрофореза в агарозном геле.

С тех пор, как Fredrickson и Lees предложили систему для фенотипирования гиперлипидемии (ГЛП) в 1965, принцип обнаружения и предотвращения коронарной болезни сердца с помощью электрофореза липопротеинов стал вполне обычным тестом.

Эпидемиологические исследования выявили связь между потреблением с пищей жиров, в особенности холестерина, уровнем липидов в крови и частотой развития атеросклероза, главным проявлением которого являются сердечно-сосудистые заболевания и приступы. Ишемическая болезнь сердца, как выяснилось, также связана с гиперхолестеринемией^{2,3}. Необходимость точного определения фенотипов по липопротеинам обусловлена тем, что ГЛП характерна для целой группы болезней, отличающихся по клиническим признакам, прогнозам и чувствительности к лечению. Поскольку способы лечения этих заболеваний различаются для разных фенотипов, чрезвычайно важно установить верный фенотип до начала лечения⁴. В системе классификации ГЛП, которую предложили Fredrickson и Lees, только у типов II, III и IV установлена достоверная связь с атеросклерозом. В плазме липиды не циркулируют свободно, а транспортируются в связанной с белком форме, и потому могут классифицироваться как липопротеины. Разные фракции состоят из различных сочетаний белка, холестерина, глицеридов, эфиров холестерина, фосфатов и свободных жирных кислот. Для разделения липопротеинов плазмы применяли несколько способов, включая ультрацентрифугирование, тонкослойную хроматографию, иммунологические методы и электрофорез. В настоящее время наиболее широко распространенными методами являются электрофорез и ультрацентрифугирование, каждый из которых дал начало собственной терминологии. В следующей таблице показана связь между соответствующей классификацией фракций липопротеинов и относительным липидным и белковым составом каждой фракции.

Принципы классификации		Состав фракции, %			
Электрофоретическая подвижность	Ультрацентрифугирование	Белок	Глипериды	Холестерин	Фосфолипиды
Хиломикроны		2	98		
β -ЛП*	ЛПНП*	21	12	45	22
пре- β -ЛП	ЛПОНП*	10	55	13	22
α -ЛП	ЛПВП*	50	6	18	26

*ЛП (липопротеины), ЛПНП (липопротеины низкой плотности), ЛПОНП (липопротеины очень низкой плотности), ЛПВП (липопротеины высокой плотности)

Однако существуют некоторые исключения из указанных классификаций. Одно из таких исключений – «оседающий пре- β -ЛП», представляющий собой вещество пре- β -ЛП



Тел. +44 (0)191 482 8440
Факс +44 (0)191 482 8442
Эл. почта info@helena-biosciences.com
www.helena-biosciences.com

Helena Biosciences Europe Queensway South,
Team Valley Trading Estate, Gateshead,
Tyne and Wear, NE11 0SD, United Kingdom

1

фракции, которое при ультрацентрифугировании оседает совместно с фракцией ЛПНП (β -ЛП). «Оседающий пре- β -ЛП» относится к ЛП(а), как установил Dahien, и считается нормальным вариантом, обнаруживаемым у 10% популяции.

Другое исключение – «плавающий β -ЛП», представляющий собой вещество фракции β -ЛП, оседающее при ультрацентрифугировании на уровне фракции ЛПОНП. Этот аномальный липопротеин обнаруживается при ГЛП типа III. Разнообразные вспомогательные средства применялись для электрофоретического разделения липопротеинов. При создании классификации типов ГЛП, Fredrickson использовал бумажный электрофорез^{1,8}. В настоящее время используются агарозные, крахмальные и полиакриламидные гели. Набор SAS-MX Lipoprotein обеспечивает разделение липопротеинов сыворотки/плазмы в соответствии с их зарядом в агарозном геле, после чего следует их фиксация и окрашивание для визуализации.

ПРЕДОСТЕРЕЖЕНИЯ И МЕРЫ БЕЗОПАСНОСТИ

Все реагенты предназначены для использования только в лабораторных условиях.

Не глотайте реактивы и не пытайтесь набирать их при помощи рта. При работе надевайте перчатки. За информацией по охране труда и утилизации обращайтесь к спецификации по технике безопасности.

СОСТАВ РЕАГЕНТОВ

1. Гель SAS-MX Lipoprotein

Содержит агарозу на основе трис/барбитал буфера с азидом натрия и тиомерсалом в качестве консервантов. Гель упакован в готовом к использованию виде.

2. Концентрат трис/барбитал буфера

Содержит концентрированный трис/барбитал буфер с азидом натрия в качестве консерванта. Разведите содержимое одной бутылки до конечного объема 1 л дистиллированной водой и тщательно перемешайте.

3. Краситель SAS-MX Lipoprotein

Содержит жирорастворимый краситель Fat Red 7B. Растворите содержимое одного флакона в 1 л этанола и перемешивайте в течение 24 часов, перед использованием профильтруйте. Приготовление рабочего раствора красителя: непосредственно перед использованием добавьте 5мл дистиллированной воды к 25мл маточного раствора. Воду добавляйте по каплям с одновременным помешиванием.

4. Другие компоненты набора

Каждый набор включает инструкцию по эксплуатации и достаточное количество матриц для внесения образцов и блоттеров А и С в расчете на 10 гелей.

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ РЕАГЕНТОВ

1. Гель SAS-MX Lipoprotein

Гели должны храниться при температуре +15...30°C, стабильность сохраняется до истечения срока годности, указанного на упаковке. НЕ ОХЛАЖДАЙТЕ И НЕ ЗАМОРАЖИВАЙТЕ ГЕЛИ! О порче геля свидетельствует: 1) появление кристаллических структур, указывающих на факт замораживания геля; 2) растрескивание и расслаивание, сопровождающее высыхание геля; 3) видимая бактериальная или грибковая контаминация агарозы.

2. Концентрат трис/барбитал буфера

Концентрат буфера должен храниться при температуре +15...30°C, стабильность



Тел. +44 (0)191 482 8440
Факс +44 (0)191 482 8442
Эл. почта info@helena-biosciences.com
www.helena-biosciences.com

Helena Biosciences Europe Queensway South,
Team Valley Trading Estate, Gateshead,
Tyne and Wear, NE11 0SD, United Kingdom

сохраняется до истечения срока годности, указанного на этикетке. Разведенный буфер стабилен в течение 2 месяцев при температуре +15...30°C.

3. Краситель SAS-MX Lipoprotein

Порошок красителя должен храниться при температуре +15...30°C, стабильность сохраняется до истечения срока годности, указанного на этикетке. Растворенный краситель стабилен в течение 6 месяцев при температуре +15...30°C. Хранить в герметично закрытом флаконе.

ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЕ НЕОБХОДИМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

Кат. ном. 4063 Камера

Кат. ном. 1525 Блок питания EPS600

Сушильный шкаф с функцией принудительного нагнетания воздуха на +60...70°C

Обесцвечивающий раствор: смешайте 75мл этилового спирта и 25мл дистиллированной воды непосредственно перед использованием

Очищенная вода

СБОР И ПРИГОТОВЛЕНИЕ ОБРАЗЦОВ

Предпочтительными образцами являются свежая сыворотка или плазма (с использованием ЭДТА в качестве антикоагулянта). Образцы могут храниться при температуре +2...6°C в течение 5 дней. НЕ ЗАМОРАЖИВАЙТЕ ОБРАЗЦЫ!

Подготовка пациента: для получения максимально точных результатов необходимо принять следующие меры перед получением образца:

- 1) Обеспечить предварительное голодание пациента в течение 12-14 часов перед получением образца для предотвращения интерференции хиломикронами, индуцирующимися пищей.
- 2) Отменить прием всех лекарств на 3-4 недели, если это возможно.
- 3) В течение 1 недели пациент должен поддерживать стабильный вес и придерживаться нормальной диеты.
- 4) В случае перенесения инфаркта миокарда или схожего травматического события требуется выждать 4-8 недель, прежде чем проводить анализ.

Факторы, препятствующие точному анализу:

- 1) Гепариновая терапия может привести к изменениям в подвижности липопротеинов, в частности β -ЛП.
- 2) По тем же причинам гепарин не может использоваться в качестве антикоагулянта при получении образцов плазмы.

ПОЭТАПНАЯ ПРОЦЕДУРА

1. Достаньте гель из упаковки и поместите на бумажное полотенце. Промокните его поверхность с помощью блоттера С, затем удалите блоттер.
2. Совместите матрицу для внесения образцов со стрелками вдоль края геля. Поместите блоттер А поверх матрицы и слегка проведите пальцем вдоль щелей, чтобы обеспечить надежный контакт. Удалите блоттер А, но сохраните его для использования на этапе 5.
3. Внесите по 2мкл образца в каждую щель и позвольте образцам абсорбироваться в течение 7 минут.
4. Пока образцы абсорбируются, залейте 25мл буфера в каждый внутренний отсек камеры SAS-MX.



Тел. +44 (0)191 482 8440
Факс +44 (0)191 482 8442
Эл. почта info@helena-biosciences.com
www.helena-biosciences.com

Helena Biosciences Europe Queensway South,
Team Valley Trading Estate, Gateshead,
Tyne and Wear, NE11 0SD, United Kingdom

5. После абсорбции образцов, слегка промокните матрицу с помощью блоттера A, сохраненного после этапа 2, затем удалите матрицу и блоттер.
6. Поместите гель в камеру агарозой вверх, совместив позитивную (+) и негативную (-) стороны с соответствующими позициями камеры.
7. Проведите электрофорез при следующих условиях: 80 вольт, 45 минут.
8. После электрофореза подсушите гель при температуре +60...70°C.
9. Поместите подсушенный гель в сосуд для окрашивания и аккуратно налейте поверх геля 30мл свежеприготовленного рабочего раствора красителя. Инкубируйте в течение 2 минут.
10. Промойте гель дважды по 15-30 секунд в обесцвечивающем растворе.
11. Быстро ополосните гель в дистиллированной воде и высушите.

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Рекомендуется проводить оценку результатов в сравнении с нормальными значениями, получаемыми данным методом в соответствующей лаборатории.

1. Качественная оценка: визуально исследуйте гель на присутствие или отсутствие интересующих окрашенных полос.

2. Количественная оценка: просканируйте гель при длине волны 525нм агарозой вниз. α -ЛП (ЛПВП) является наиболее подвижной фракцией и смещается к аноду ближе всего. β -ЛП (ЛПНП) является наиболее заметной фракцией и располагается ближе всего к точке внесения образца. Пре- β -ЛП (ЛПОНП) размещается между фракциями α -ЛП и β -ЛП. Подвижность фракции пре- β -ЛП изменяется в зависимости от полученной степени разрешения, типа пре- β -ЛП и количества β -ЛП в образце. Иногда фракция пре- β -ЛП выглядит как размытое пятно перед фракцией β -ЛП, в других случаях она может разделяться на две части или полностью отсутствовать. Сохранность фракции пре- β -ЛП уменьшается пропорционально времени хранения образца. В случае присутствия в образце хиломикрон, они остаются в точке внесения.

Не рекомендуется вычислять каждую липидную фракцию в мг/дл или ммоль/л (см. ОГРАНИЧЕНИЯ).

Нормальная сыворотка, полученная после предварительного голодания, может считаться чистой с незначительными количествами хиломикрон и нормальными уровнями холестерина и триглицеридов. При электрофорезе β -ЛП определяются как преобладающая фракция, со слабовидимой или отсутствующей полосой пре- β -ЛП и четкой, но менее интенсивной по сравнению с β -ЛП полосой α -ЛП.

При ГЛП у пациента должны быть повышены уровни холестерина и триглицеридов. Повышение может быть первичным или вторичным при таких нарушениях обмена веществ как гипотиреоз, обструктивная желтуха, нефротический синдром, диспротеинемия или слабоконтролируемый инсулинозависимый сахарный диабет.

Первичная липидемия возникает под действием наследственных факторов или факторов окружающей среды с неизвестным механизмом действия, таких как диета, прием алкоголя и лекарств, в особенности эстрогена или других стероидных гормонов. Также к первичным относятся липопротеинемии, связанные с кетозустойчивым диабетом, панкреатитом и ожирением. Сахарный диабет и панкреатит могут привести к



Тел. +44 (0)191 482 8440
Факс +44 (0)191 482 8442
Эл. почта info@helenabiosciences.com
www.helenabiosciences.com

Helena Biosciences Europe Queensway South,
Team Valley Trading Estate, Gateshead,
Tyne and Wear, NE11 0SD, United Kingdom

запутыванию, поскольку зачастую сложно определить, что является истинным этиологическим фактором – само заболевание или ГЛП.

За более полной информацией по фенотипированию ГЛП с описаниями критериев, обращайтесь к работам Fredrickson D.S. и Lees R.S.^{1,8}.

Заметное повышение уровня α -ЛП наблюдается при обструктивной желтухе и циррозе, понижение обнаруживается при паренхиматозном заболевании печени. Болезнь Танжера – редкое наследственное заболевание, характеризующееся полным отсутствием нормальных α -ЛП. У гетерозигот уровень α -ЛП понижен. Следует отметить, что гиперэстрогемия (при беременности или использовании пероральных противозачаточных) может вызвать умеренное повышение уровня α -ЛП₁₂.

Абеталипопротеинемия – первичное наследственное заболевание, характеризующееся тяжелой недостаточностью всех липопротеинов с плотностью менее 1,063 (кроме α -ЛП). Болезнь сопровождается многочисленными клиническими симптомами и ограничивает продолжительность жизни. Также известно несколько случаев наследственной гипобеталипопротеинемии. По некоторым данным, причинами гипобеталипопротеинемии и абеталипопротеинемии являются различные мутации.

Липопротеин X – это аномальный липопротеин, часто обнаруживаемый у пациентов с обструктивной желтухой. Он состоит из незтерифицированного (свободного) холестерина, фосфолипидов и белка, типичного для ЛПОНП. Липопротеин X обладает меньшей подвижностью, чем ЛПНП, а из-за относительно малого содержания липидов, слабо или совсем не окрашивается обычными липидными красителями, поэтому обычно не обнаруживается при стандартном липопротеиновом электрофорезе. Однако он хорошо заметен при использовании холестерин-специфических ферментативных методов визуализации.

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Для контроля правильности выполнения всех этапов методики рекомендуется использовать Lipotrol Control (кат. ном. 5069) при каждом запуске. Допустимые результаты анализа указаны во вкладыше, поставляемом вместе с контролем в упаковке.

ОГРАНИЧЕНИЯ

Жирорастворимые красители Fat Red 7B и Sudan обладают значительно большим сродством к эфирам холестерина и триглицеридам по сравнению со свободным холестерином и фосфолипидами. Окрашенные полосы, видимые после проведения процедуры, не отражают истинного количественного значения общих липидов плазмы. Поскольку липидный состав каждой фракции липопротеинов варьирует, важно определить общие уровни холестерина и триглицеридов перед интерпретацией результатов электрофореза^{8,9}. При установлении или исключении диагноза ГЛП типа III необходима более точная количественная оценка липопротеинов с помощью ультрацентрифугирования⁴ или PAGE¹¹ электрофореза.

КОНТРОЛЬНЫЕ ЗНАЧЕНИЯ

Рекомендуется проводить оценку результатов в сравнении с нормальными значениями, получаемыми данным методом в соответствующей лаборатории. Определение диапазона нормальных значений проводилось с использованием образцов от 48 здоровых женщин и мужчин:



Тел. +44 (0)191 482 8440
Факс +44 (0)191 482 8442
Эл. почта info@helena-biosciences.com
www.helena-biosciences.com

Helena Biosciences Europe Queensway South,
Team Valley Trading Estate, Gateshead,
Tyne and Wear, NE11 0SD, United Kingdom

Фракция	Диапазон (%)
α -ЛП	14-46
пре- β -ЛП	6-40
β -ЛП	28-61,7
Хиломикроны	0-2

ЭКСПЛУАТАЦИОННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Точность в пределах одного запуска: 8 повторов одного образца в одном геле.

Фракция	Среднее (%)	Ст. откл.
α -ЛП	26,3	(%)
пре- β -ЛП	29,4	5,2
β -ЛП	44,4	4,0
		4,3

Точность между разными запусками: один образец в 10 разных гелях.

Фракция	Среднее (%)	Ст. откл.
α -ЛП	25,2	(%)
пре- β -ЛП	34,7	9,0
β -ЛП	44,0	4,2
		2,7

ССЫЛКИ

1. Fredrickson, D.S and Lees, R.S. 'A System For Phenotyping Hyperlipoproteinemias', *Circulation*, 1965; 31(3) : 321-327.
2. Henry, R.J. Ed., 'Clinical Diagnosis and Management of Laboratory Methods', 17th Ed., W.B. Saunders & Co., New York, 194-201, 1984.
3. Lewis, L.A. and Oppel, J.J. Ed., 'CRC Handbook of Electrophoresis Vol II Lipoproteins in Disease', CRC Press Inc., Florida, 63-239, 1980.
4. Levy, R.I. and Fredrickson, D.S. 'Diagnosis and Management of Hyperlipoproteinemia', *Am. J. Cardiol.*, 1968; 22(4) : 576-583.
5. Houtsmuller, A.J., 'Agarose-gel Electrophoresis of Lipoproteins: A Clinical Screening Test', Koninklijke Van Gorcum and Comp., The Netherlands, p5, 1969.
6. Stonde, N.J. and Levy, R.I. 'The Hyperlipidemias and Coronary Artery Disease', *Disease-A-Month*, 1972.
7. Dahlen, G. 'The Pre-Beta Lipoprotein Phenomenon in Relation to Serum Cholesterol and Triglyceride Levels: The Lp(a) Lipoprotein and Coronary Heart Disease', *Umea University Medical Dissertations*, Sweden, No. 20, 1974.
8. Fredrickson, D.S., Levy, R.I. and Lees, R.S., 'Fat Transport in Lipoproteins - An Integrated Approach To Mechanisms and Disorders' *N. Eng. J. Med.*, 1967; 276 : 34-42, 94-103, 148-156, 215-226, 273-281.
9. Fredrickson, D.S. 'When To Worry About Hyperlipidemia', *Consultant*, December 1974.



Тел. +44 (0)191 482 8440
Факс +44 (0)191 482 8442
Эл. почта info@helena-biosciences.com
www.helena-biosciences.com

Helena Biosciences Europe Queensway South,
Team Valley Trading Estate, Gateshead,
Tyne and Wear, NE11 0SD, United Kingdom

Тест-система "Пентавалентный скрининг" для приборов SAS-1, SAS-3 (SAS-1, SAS-3 "Pentavalent Screen")

НАЗНАЧЕНИЕ

Тест-система Пентавалентный скрининг предназначена для скрининга образцов сыворотки и мочи на моноклональные гаммопатии методом электрофореза в агарозном геле и иммунофиксации.

Электрофорез с иммунофиксацией (IFE) – это двухступенчатая процедура, использующая электрофорез высокого разрешения в агарозном геле на первом этапе и иммунофиксацию на втором этапе.

Наибольшая потребность в IFE присутствует в клинических лабораториях, где метод используется в первую очередь для определения моноклональных гаммопатий. Моноклональная гаммопатия – это первичное состояние заболевания, при котором один клон клеток плазмы производит повышенные уровни иммуноглобулина определенного класса и типа. Такие иммуноглобулины называют моноклональными белками, М-белками или парапротеинами. Их присутствие может носить неопасный характер или иметь сомнительное значение. В некоторых случаях они указывают на злокачественное развитие заболевания, например множественная миелома или макроглобулинемия Вальденстрема. Следует дифференцировать поликлональную и моноклональную гаммопатию, так как поликлональные гаммопатии представляют собой вторую стадию заболевания, обусловленную клиническими нарушениями, такими как хроническое заболевание печени, коллагеновые нарушения, ревматический артрит и хроническая инфекция.

Белки мочи образуются в первую очередь на основе белков плазмы, которые фильтруются почками. Присутствие аномальных белков плазмы в моче имеет важнейшее значение при оценке почечной функции. Соответствующее исследование протеинурии должно включать количественную и качественную оценки типов и количества выделяемых белков.¹⁻⁵

В литературе иммунофиксация была впервые описана Альфонсо (Alfonso) в 1964 г.⁶ Альпер (Alper) и Джонсон (Johnson) опубликовали более удобную процедуру в 1969 г., а также опубликовали количество исследований, использующих данную методику.⁷⁻⁹ Иммунофиксация использовалась в качестве процедуры для исследования иммуноглобулинов с 1976 г.¹⁰⁻¹¹

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Все реагенты предназначены только для диагностического использования в условиях *in vitro*. Не глотать и не пипетировать ртом ни один компонент набора. Надевать перчатки при работе со всеми компонентами набора. См. паспорт безопасности химического вещества, положения о рисках и обеспечении безопасности, а также информацию об утилизации.

СОСТАВ

200301:

1. SAS-1 Гель

Содержит агарозу в Трис/барбитал буфере с тиомерсалом и азидом натрия в качестве консерванта. Гель упакован готовым к употреблению.

2. Концентрат кислотного фиолетового красителя



Тел. +44 (0)191 482 8440
Факс +44 (0)191 482 8442
Эл. почта info@helena-biosciences.com
www.helena-biosciences.com

Helena Biosciences Europe Queensway South,
Team Valley Trading Estate, Gateshead,
Tyne and Wear, NE11 0SD, United Kingdom

НЕ ДЛЯ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ С НАБОРОМ ДЛЯ ПЕНТАВАЛЕНТНОГО СКРИНИНГА

3. Обесцвечивающий раствор, концентрат.

Содержит концентрированный обесцвечивающий раствор. Довести содержимое бутылки до 2-х литров с использованием очищенной воды. Хранить в бутылки с плотно закрывающейся крышкой.

4. Промывочный раствор

Содержит 100 мл концентрированного промывочного раствора. Довести 20 мл до 1 литра с использованием солевого раствора.

5. Разбавитель образца

Содержит буфер Трис/барбитал с бромомонофенолом синим и азидом натрия в качестве консерванта. Разбавитель упакован готовым к употреблению.

6. Другие компоненты набора

Каждый набор содержит инструкцию по применению (не для использования с пентавалентным скринингом) и достаточное количество промокательной бумаги C, D и гребенок-блоттеров для выполнения 10 гелей.

200406:

1. Кислотный синий краситель, концентрат.

Содержит концентрированный кислотный синий краситель. Довести содержимое бутылки до 700 мл с использованием очищенной воды. Перемешать, оставить на ночь, отфильтровать перед использованием. Хранить в бутылки с плотно закрывающейся крышкой.

2. Другие компоненты набора

Каждый набор содержит инструкцию по применению.

УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И СРОК ГОДНОСТИ

1. Гель SAS-I IFE.

Гель следует хранить при температуре 15-30°C, в этом случае гели сохраняют стабильность до окончания срока годности, указанного на упаковке. НЕ ОХЛАЖДАТЬ И НЕ ЗАМОРАЖИВАТЬ. Испорченный гель можно определить по следующим признакам: 1) кристаллический внешний вид, который указывает на то, что гель был заморожен; 2) ломкость и отслаивание, свидетельствующие о высыхании геля; 3) видимое загрязнение агарозы бактериальными или грибковыми источниками.

2. Кислотный фиолетовый краситель

НЕ ДЛЯ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ С НАБОРОМ ДЛЯ ПЕНТАВАЛЕНТНОГО СКРИНИНГА

3. Обесцвечивающий раствор

Концентрат обесцвечивающего раствора следует хранить при температуре 15-30°C, в этом случае он сохраняет стабильность до окончания срока годности, указанного на ярлыке. Раствор стабилен в течение 6 месяцев при температуре 15-30°C.

4. Промывочный раствор

Концентрат промывочного раствора следует хранить при температуре 15-30°C, в этом случае он сохраняет стабильность до окончания срока годности, указанного на ярлыке.



Тел. +44 (0)191 482 8440
Факс +44 (0)191 482 8442
Эл. почта info@helena-biosciences.com
www.helena-biosciences.com

Helena Biosciences Europe Queensway South,
Team Valley Trading Estate, Gateshead,
Tyne and Wear, NE11 0SD, United Kingdom

Раствор стабилен в течение 6 месяцев при температуре 15-30°C. Помутнение может свидетельствовать о порче.

5. Разбавитель образца

Разбавитель образца следует хранить при температуре 15-30°C, в этом случае он сохраняет стабильность до окончания срока годности, указанного на ярлыке. Помутнение может свидетельствовать о порче.

200406:

1. Кислотный синий краситель.

Концентрат красителя следует хранить при температуре 15-30°C, в этом случае он сохраняет стабильность до окончания срока годности, указанного на ярлыке. Раствор красителя стабилен в течение 6 месяцев при температуре 15-30°C. Рекомендуется утилизировать использованный краситель незамедлительно в целях предотвращения снижения окрашивающей способности. Низкая эффективность окрашивания может указывать на порчу.

НЕОБХОДИМЫЕ КОМПОНЕНТЫ, НЕ ВКЛЮЧЕННЫЕ В НАБОР

Номер по каталогу 210200 Ножи аппликатора для образцов (1 x 10)

Номер по каталогу 210300 Ножи аппликатора для образцов (5 x 10)

Номер по каталогу 321200 Пентавалентная антисыворотка (для образцов мочи и сыворотки) 3 мл

Номер по каталогу 321300 Пентавалентная антисыворотка (для образцов мочи и сыворотки) 10 x 3 мл

Номер по каталогу 210100 Одноразовые колпачки для образцов (100)

Номер по каталогу 3100 REP Prep

ОТБОР И ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦОВ

Предпочтение следует отдать свежесобранному образцу сыворотки или мочи. Несмотря на то, что образцы сыворотки допускается хранить при температуре 15-30°C до 4-х дней, при 2-6°C до 2-х недель или 6 месяцев при -20°C для стандартных 5-полосных шаблонов, полоса бета 2-глобулин (Complement C3) быстро разлагается при хранении. Образцы мочи допускается хранить в охлажденном виде при 2-6°C до 72 часов или в течение 2-х недель при -20°C. Образцы мочи первый раз следует использовать без повышения концентрации или разбавления, кроме случаев, когда известно, что общий белок превышает 1000 мг/л.

ПОШАГОВАЯ ПРОЦЕДУРА

1. МОЧА: Пипетировать 35µл образца в соответствующий одноразовый колпачок для образцов. Предотвратить испарение образцов.

СЫВОРОТКА: Разбавить каждый образец в пропорции 1+2 с использованием разбавителя IFE. Пипетировать 35µл разбавленного образца в соответствующие одноразовые колпачки для образцов. Предотвратить испарение образцов.

2. Включить прибор для электрофореза и :

i) Пользователи SAS-1 Plus: Осторожно поместить поддон для образцов в ящик аппликатора. Установить поддон в соответствующее положение с применением нажатия.



Тел. +44 (0)191 482 8440
Факс +44 (0)191 482 8442
Эл. почта info@helena-biosciences.com
www.helena-biosciences.com

Helena Biosciences Europe Queensway South,
Team Valley Trading Estate, Gateshead,
Tyne and Wear, NE11 0SD, United Kingdom

ii) Пользователи SAS-3: Осторожно поместить поддон для образцов при помощи позиционирующих штырьков для поддона с образцами. Убедитесь, что поддон надежно установлен.

3. Извлечь гель из упаковки и:

i) Пользователи SAS-1 Plus: нанести 400μl REP Rper на теплоотвод. Поместить гель на теплоотвод стороной с агарозой вверх, совместив положительные и отрицательные стороны с соответствующими стойками электродов, при этом следует исключить попадание пузырьков воздуха под гель.

ii) Пользователи SAS-3: поместить направляющую на штырьки и нанести 400μl REP Rper на центр камеры. Поместить гель в камеру стороной с агарозой вверх, с использованием направляющей, совместив положительные и отрицательные стороны с соответствующими стойками электродов, при этом следует исключить попадание пузырьков воздуха под гель.

4. Промокнуть поверхность геля промокательной бумагой C, утилизировать бумагу.

5. i) Пользователи SAS-1 Plus: поместить крышку на гель и электроды и плотно прижать на 5 секунд для обеспечения контакта.

ii) Пользователи SAS-3: подсоединить электроды к стойкам таким образом, чтобы они контактировали с блоками геля.

6. Установить в прибор 2 ножа аппликатора в сборе в соответствующую позицию (Пользователи SAS-3: слот A и 10).

7. Выполнить электрофорез для пентавалентного скрининга:

i) Пользователи SAS-1 Plus:

Электрофорез : 100 Вольт, 18 минут, 20°C

Инкубация, шаг 1: 8 минут, 37°C (инкубировать)

Инкубация, шаг 2: 8 минут, 40°C (промокательная бумага D)

ПРИМЕЧАНИЕ: Для скрининга сыворотки требуется 1 нанесение образца. Для скрининга мочи требуется 10 нанесений проб.

ii) Пользователи SAS-3:

Шаг	Время (мин:сек)	Температура (°C)	Напряжение	Другое
Загрузка образца	00:30	21		Скорость 1
Нанесение пробы	00:30	21		Скорость 1*
Электрофорез	17:00	21	100	
Нанесение антисыворотки	10:00	21		
Установка гребенок	02:00	21		
Промокательная бумага D	05:00	40		
Сушка	08:00	54		



Тел. +44 (0)191 482 8440
Факс +44 (0)191 482 8442
Эл. почта info@helena-biosciences.com
www.helena-biosciences.com

Helena Biosciences Europe Queensway South,
Team Valley Trading Estate, Gateshead,
Tyne and Wear, NE11 0SD, United Kingdom

***Использование помещения 2**

ПРИМЕЧАНИЕ: Для скрининга сыворотки требуется 1 нанесение образца. Для скрининга мочи требуется 10 нанесений проб. Перед сушкой следует извлечь блоки геля.

8. По завершении электрофореза (Пользователи SAS-1 Plus: снять крышку), снять электроды с поверхности геля. (Пользователи SAS-3: снять направляющую). Разместить шаблон для нанесения антисыворотки на поверхности геля. **ПРИМЕЧАНИЕ:** Каналы для антисыворотки следует наложить на квадрат, отмеченный на геле, на который наносят образцы.

9. Нанести 60µл пентавалентной антисыворотки в каждое отверстие шаблона антисыворотки. Следует убедиться, что антисыворотка полностью заполнила каналы.

10. Инкубировать гель.

11. По завершении инкубации поместить гребенку-блоттер на отверстия шаблона антисыворотки. Оставить на 2 минуты для абсорбции излишков антисыворотки, затем удалить гребенку и шаблон с поверхности геля.

12. Поместить промокательную бумагу D (гладкой стороной вниз) на поверхность геля, оставить на 10 секунд и удалить.

13. Поместить промокательную бумагу D (гладкой стороной вниз) на поверхность геля и вновь положить шаблон антисыворотки для обеспечения горизонтального положения промокательной бумаги. Выполнить абсорбцию геля. **ПРИМЕЧАНИЕ:** Незамедлительно после использования очистить шаблон антисыворотки с использованием мягкого биоцидного моющего средства.

14. Удалить промокательную бумагу D. Пользователи SAS-3: Высушить гель и выполнить первую 3-х секундную промывку камеры на приборе SAS-4.

15. Удалить блоки геля и установить гель на держатель камеры для окрашивания, затем выполнить последние шаги на SAS-2 или SAS-4.

16. По окончании цикла окрашивания удалить гель из камеры для окрашивания. Теперь гель готов для исследования.

а) SAS-2 (Прибор для автоматического окрашивания)

Шаг	Раствор	Время (мин:сек)	Порт	Температура (°C)
Сушка	---	10:00		55
Промывка	Промывочный раствор	07:00	4	
Окрашивание	Кислотный синий	03:00	6	



Тел. +44 (0)191 482 8440
Факс +44 (0)191 482 8442
Эл. почта info@helena-biosciences.com
www.helena-biosciences.com

Helena Biosciences Europe Queensway South,
Team Valley Trading Estate, Gateshead,
Tyne and Wear, NE11 0SD, United Kingdom

	краситель			
Обесцвечивание	Обесцвечивающий раствор	02:00	2	
Сушка	---	05:00		65
Промывка	Промывочный раствор	03:00	4	
Промывка	Промывочный раствор	03:00	4	
Сушка	---	05:00		65

б) SAS-4 (Прибор для автоматического окрашивания)

Шаг	Время (мин:сек)	Температура (°C)	Другое
Промывка	00:03		Рециркуляция ВКЛ
Промывка	10:00		Рециркуляция ВКЛ
Окрашивание	04:00		Рециркуляция ВКЛ
Обесцвечивание	02:00		Рециркуляция ВКЛ
Обесцвечивание	02:00		Рециркуляция ВКЛ
Сушка	12:00	64	

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

При электрофорезе белков большая часть моноклональных белков мигрирует в катодный гамма-регион шаблона белков, однако вследствие аномальности их природы они могут мигрировать в любое место в рамках зоны глобулинов. В таком случае аномальный белок следует идентифицировать с использованием иммунофиксации.

При наличии низких концентраций аномального белка аномальная полоса может появиться в рамках нормального поликлонального иммуноглобулина. Полосу также можно будет увидеть на поликлональном фоне, где также присутствует значительное количество поликлонального иммуноглобулина.

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Kemtrol Abnormal (номер по каталогу 7025) дает одну моноклональную полосу на поликлональном фоне.

ОГРАНИЧЕНИЯ

1. Излишек антигена

Излишек антигена происходит в случае отсутствия небольшого излишка антител или равенства антигена/антител на стадии осаждения. Излишек антигена при иммунофиксации обычно обусловлен избытком иммуноглобулина в образце пациента. Излишек антигена характеризуется прозоной (неокрашенными участками в центре иммунофиксированной полосы белка, с окраской по краям). В таком случае следует использовать более высокую степень разведения образца с целью оптимизации концентрации иммуноглобулина.

РАБОЧИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

а) Чувствительность

При использовании метода для мочи (10 нанесений), количество 10 мг/л было определено как самая малая концентрация белка, которая была очевидно определена как отдельная полоса на выполненном геле.



Тел. +44 (0)191 482 8440
Факс +44 (0)191 482 8442
Эл. почта info@helena-biosciences.com

www.helena-biosciences.com

Helena Biosciences Europe Queensway South,
Team Valley Trading Estate, Gateshead,
Tyne and Wear, NE11 0SD, United Kingdom

б) Линейность

Линейность метода – это функция спецификации денситометра, а также эффективность геля. Рекомендуется, чтобы каждый пользователь определил линейность метода, основываясь на используемом в лаборатории денситометре.

БИБЛИОГРАФИЯ

1. Fauchier, P. and Catalan, F. 'Interpretive Guide to Clinical Electrophoresis' Alfred Fournier Institute, Paris, France, 1988.
2. Killingsworth, L.M., Cooney, S.K. and Tyllia, M.M. 'Finding Clues to Disease in Urine' *Diagnostic Medicine*, 1980 ; May/June : 69-75.
3. Umbreit, A. and Wiedemann, G. 'Determination of Urinary Protein Fractions. A Comparison With Different Electrophoretic Methods and Quantitatively Determined Protein Concentrations' *Clin. Chim. Acta.*, 2000; 297 : 163-172.
4. Wiedemann, G. and Umbreit, A. 'Determination of Urinary Protein Fractions by Different Electrophoretic Methods', *Clin. Lab.*; 1999, 45 : 257-262.
5. Wong, W.K., Wieringa, G.E., Stec, Z., Russell, J., Cooke, S., Keevil, B.G. and Lockhart, S. 'A Comparison of Three Procedures for the Detection of Bence-Jones Proteinuria' *Ann. Clin. Biochem.*, 1997, 34 : 371-374.
6. Alfonso, E., 'Quantitation Immuno-electrophoresis of Serum Proteins', *Clin. Chim. Acta.*, 1964; 10 : 114-122.
7. Alper, C.A and Johnson, A.M., 'Immunofixation Electrophoresis: A Technique for the Study of Protein Polymorphism', *Vox. Sang.*, 1969; 17 : 445-452.
8. Alper, C.A., 'Genetic Polymorphism of Complement Components as a Probe of Structure and Function', *Progress in Immunology. First International Congress of Immunology*. 1971 : 609-624, Academic Press, New York.
9. Johnson, A.M., 'Genetic Typing of Alpha(1)-Antitrypsin in Immunofixation Electrophoresis. Identification of Subtypes of Pi M.', *J. Lab. Clin. Med.*, 1976; 87 : 152-163.
10. Cawley, L.P., Minard, B.J, Tourtellotte, W.W., Ma, B.I. and Chelle, C., 'Immunofixation Electrophoretic Technique Applied to Identification of Proteins in Serum and Cerebrospinal Fluid', *Clin. Chem.*, 1976; 22 : 1262-1268.
11. Ritchie, R.F and Smith, R. 'Immunofixation III, Application to the Study of Monoclonal Proteins', *Clin. Chem.*, 1976; 22 : 1982-1985.



Тел. +44 (0)191 482 8440
Факс +44 (0)191 482 8442
Эл. почта info@helena-biosciences.com
www.helena-biosciences.com

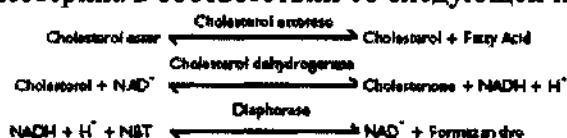
Helena Biosciences Europe Queensway South,
Team Valley Trading Estate, Gateshead,
Tyne and Wear, NE11 0SD, United Kingdom

Тест-система "Холестеринный профиль" для прибора SAS-3
(SAS-3 Cholesterol Profile kit),

Тест-система "Холестеринный профиль-12" для прибора SAS-1
(SAS-1 Plus Cholesterol Profile kit)

НАЗНАЧЕНИЕ

Тест-система позволяет разделить в сыворотке крови липопротеины в соответствии с их зарядом в агарозном геле. Фракции липопротеидов затем визуально рассматривают при инкубации с реагентом холестерина, количественно определяют холестерин и эфиры холестерина в соответствии со следующей последовательностью реакций:



Альфа-фракция мигрирует быстрее всего к аноду и соответствуют ЛВП. Следующая фракция – пре-бета, она соответствует липопротеинам очень низкой плотности (ЛОНП) и медленно мигрирующая бета-группа соответствует ЛНП. Фракция или несколько фракций, которая может появиться между альфа- и пре-бета фракцией, но не все фракции необходимо интерпретировать как ЛП(а) - С фракция.

Отношения ЛВП холестерина играют важную роль при ишемической болезни сердца (ИБС), сообщает Барр и др., а также Миллер в 1951¹ и Миллер в 1975². Работы Кастелли и др.³⁻⁶ сосредоточили внимание на ЛВП холестерина для лабораторной оценки определения риска ИБС. Клинические рекомендации Национальной образовательной программы по холестерину (NCEP) дают рекомендации клиническим лабораториям проводить определение Общего холестерина, ЛВП и ЛНП холестерина и триглицеридов. ЛНП, как уже подтверждено это этерогенные липопротеиды на основе содержания холестерина и являются главной основой для решений относительного лечения по рекомендациям NCEP⁷.

Холестерин содержащий фракции липопротеидов был определен методом ультрацентрифугирования⁸, селективным осаждением⁹ и электрофорезом на различных носителях¹⁰. Общий метод исследования для точного количественного определения ЛНП, и основной референтный метод, назначен «бета-количественный», бета-фракция определенная электрофоретически ЛНП. Бета-количественный метод предполагает сочетание ультрацентрифугирования и химическую преципитацию^{11,12}. Бета-количественный метод дает так называемую «широкую отсечку» ЛНП, который включает в себя ЛП (а)- С липопротеин^{13,14}. NCEP группа пришла к выводу, что альтернативные методы, необходимые для рутинной диагностики, предпочтительно, непосредственно отдельные ЛНП количественно холестерина¹⁵. Одним из таких методов для прямого разделения ЛНП является электрофорез.

Компания Helena Biosciences производит холестеринный профиль на SAS-3, метод демонстрирует хорошее разделение на основные классов липопротеинов, четкое и точное количественное определение холестерина ЛПВП, ЛПНП, ЛПОНП и ЛП (а) в сравнении с эталонными методами.

ПРЕДОСТЕРЕЖЕНИЯ И МЕРЫ БЕЗОПАСНОСТИ



Тел. +44 (0)191 482 8440
Факс +44 (0)191 482 8442
Эл. почта info@helena-biosciences.com
www.helena-biosciences.com

Helena Biosciences Europe Queensway South,
Team Valley Trading Estate, Gateshead,
Tyne and Wear, NE11 0SD, United Kingdom

Все реагенты предназначены для использования только в лабораторных условиях. Не глотайте реактивы и не пытайтесь набирать их при помощи рта. При работе надевайте перчатки. За информацией по охране труда и утилизации обращайтесь к спецификации по технике безопасности.

СОСТАВ РЕАГЕНТОВ

1. SAS-3 Холестериновый профиль, гели

Содержит агарозу на основе трис/барбитал буфера с азидом натрия и тиомерсалом в качестве консервантов. Гель упакован в готовом к использованию виде.

2. Холестериновый профиль реагент

Содержит компоненты, необходимые для определения холестерина в зависимости от последовательности реакции, указанной выше.

3. Холестериновый профиль дилуэнт

Содержит Тритон Х-100 и консерванты. Раствор упакован в готовом к использованию виде.

4. Другие компоненты набора

Каждый набор включает инструкцию по эксплуатации и достаточное количество блоттеров С в расчете на 10 гелей.

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ РЕАГЕНТОВ

1. SAS-3 холестеринный профиль, гели

Гели должны храниться при температуре +15...30°C, стабильность сохраняется до истечения срока годности, указанного на упаковке. НЕ ОХЛАЖДАЙТЕ И НЕ ЗАМОРАЖИВАЙТЕ ГЕЛИ! О порче геля свидетельствует: 1) появление кристаллических структур, указывающих на факт замораживания геля; 2) растрескивание и расслаивание, сопровождающее высыхание геля; 3) видимая бактериальная или грибковая контаминация агарозы.

2. Холестериновый профиль реагент

Флаконы реагента должны храниться при температуре 2 ... 6 °C и стабильны до срока годности, указанного на этикетке. Растворенный реагент стабилен в течение 6 часов при температуре 2 ... 6 °C.

3. Холестериновый профиль дилуэнт.

Дилуэнт следует хранить при температуре 2 ... 6 °C, в этом случае он устойчив до истечения срока годности, указанного на этикетке.

Избегайте контаминации. Мутность и инородные включения могут указывать на ухудшение реагента.

ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЕ НЕОБХОДИМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

CCat. № 310200 аппликаторы (1 x 10)

Cat. № 310300 аппликаторы (5 x 10)

Cat. № 210100 одноразовых ячейки для образцов (100)

Cat. № 3386 SAS-3 распределитель реагентов

Cat. № 3100 теплоотводящая жидкость

ОБЕСЦВЕЧИВАЮЩИЙ РАСТВОР: смешайте 250 мл ледяной уксусной кислоты и 4750ml очищенной воды. Хранить в плотно закрытой бутылке.

Дистиллированная вода.

СБОР И ПРИГОТОВЛЕНИЕ ОБРАЗЦОВ

Предпочтительными образцами являются свежая сыворотка или плазма (с



Тел. +44 (0)191 482 8440
Факс +44 (0)191 482 8442
Эл. почта info@helena-biosciences.com
www.helena-biosciences.com

Helena Biosciences Europe Queensway South,
Team Valley Trading Estate, Gateshead,
Tyne and Wear, NE11 0SD, United Kingdom

использованием ЭДТА в качестве антикоагулянта). Образцы могут храниться при температуре +2...6°C в течение 4 дней. НЕ ЗАМОРАЖИВАЙТЕ ОБРАЗЦЫ!

Подготовка пациента:

Если HDL холестерин является единственным параметром, который будет определяться, больной не должен придерживаться диеты.

Если другие значения липидов будут также определены, то пациент должен придерживаться диеты:

- 1) Обеспечить предварительное голодание пациента в течение 12-14 часов перед получением образца для предотвращения интерференции с хиломикронами, индуцирующимися пищей.
- 2) Отменить прием всех лекарств на 3-4 недели, если это возможно.
- 3) В течение 1 недели пациент должен поддерживать стабильный вес и придерживаться нормальной диеты.
- 4) В случае перенесения инфаркта миокарда или схожего травматического события требуется выждать 4-8 недель, прежде чем проводить анализ.

Факторы, препятствующие точному анализу:

- 1) Гепариновая терапия может привести к изменениям в подвижности липопротеинов, в частности β-ЛП.

ПОЭТАПНАЯ ПРОЦЕДУРА

1. Запрограммируйте, как показано ниже следующие параметры в анализатор:

Step	Time (mm:ss)	Temperature (°C)	Voltage	Other
Electrophoresis				
Load Sample	00:30	21		Speed 6
Apply Sample	01:00	21		Speed 6 *
Repeat Load sample, apply sample for a total of 2 applications.				
Electrophoresis	40:00	12	250	
Apply Reagent		21		4 Cycles
Incubate	20:00	30		
Stainer				
Destain	15:00			Racirculate ON
Wash	15:00			Racirculate ON
Dry	40:00	63		

2. Установите правильное количество аппликаторов в соответствующие позиции анализатора:

Number of Samples	Applicator Position	
	SPIFE Combo	SPIFE 2000 / 3000 / SAS-3
60	2, 9, 16	2, 8, 14
40	2, 9	2, 8
20	2	2

3. i) SPIFE Combo пользователи: отберите пипеткой 17μl образца в соответствующие ячейки для образцов.

Накройте образцы для предотвращения испарения.

- II) SPIFE 2000/3000/SAS-3 пользователи: отберите пипеткой 35μl образца в соответствующие ячейки для образцов. Накройте образцы для предотвращения испарения.

4. Приготовьте 1 флакон с реагентом холестерина, добавив 2,5 мл дилуэнта для разведения холестерина и хорошо перемешайте:

- i) SPIFE Combo/2000 пользователи: сохраните для использования после электрофореза.

- II) SPIFE 3000/SAS-3 пользователи: поместите флакон в центральный реагентный слот.

5. Удалите гель из упаковки и снимите защитную пленку.

6. Нанесите 2 мл теплоотводящей жидкости на левую сторону камеры и осторожно



Тел. +44 (0)191 482 8440
Факс +44 (0)191 482 8442
Эл. почта info@helena-biosciences.com
www.helena-biosciences.com

Helena Biosciences Europe Queensway South,
Team Valley Trading Estate, Gateshead,
Tyne and Wear, NE11 0SD, United Kingdom

поместите гель в камеру, совмещая отверстия на геле с соответствующими пазами в камере, избегайте образование пузырей под гелем. Прикрепите электроды на внешней стороне электрододержателя так, чтобы они находились в контакте с буферными блоками гелей.

7. Поместите блот на поверхность, используйте блоттер С, не накрывайте крышкой.

8. Выберите программу, HDL тест и, следуя подсказкам, поместите образцы и выполните электрофорез, затем проинкубируйте гель с реагентом.

9. SPIFE Combo/2000 пользователи: поместите содержимое флакона холестерина вдоль одного края геля. Используйте разбрызгиватель реагента, распределяя реагент по поверхности геля, распределите реагент два раза, чтобы обеспечить равномерное покрытие.

10. После инкубации удалите электроды и удалите буферные блоки с поверхности геля, используйте специальную лопатку.

11. Прикрепите гель для окрашивания на держатель.

12. Выберите программу для окрашивания, HDL тест, и, следуя подсказкам, выполните окрашивание, обесцвечивание, промывку и сушку геля.

13. В конце цикла окрашивания, удалите гель из камеры. Гель готов к рассмотрению.

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Рекомендуется проводить оценку результатов в сравнении с нормальными значениями, получаемыми данным методом в соответствующей лаборатории. Гели могут быть отсканированы при длине волны 525 нм агарозой вниз.

Принятие решений о тактике лечения приводятся в рекомендациях NCEP и главным образом основываются на уровне LDL холестерина⁷:

Total Cholesterol		
Desirable blood cholesterol	< 200 mg/dL	
Borderline-High blood cholesterol	200-239 mg/dL	
High blood cholesterol	≥ 240 mg/dL	
HDL Cholesterol		
Low HDL cholesterol	< 35 mg/dL	
Protective HDL cholesterol	> 60 mg/dL	
Triglycerides		
Desirable	< 150 mg/dL	
Borderline	150-500 mg/dL	
Elevated	500-1000 mg/dL	
Severely elevated/pancreatitis	> 1000 mg/dL	
LDL Cholesterol		
Dietary Therapy	Initiation Level	LDL Goal
Without CHD and < 2 risk factors	≥ 160 mg/dL	< 160 mg/dL
Without CHD and ≥ 2 risk factors	≥ 130 mg/dL	< 130 mg/dL
With CHD	≥ 100 mg/dL	≤ 100 mg/dL
Drug Therapy		
Dietary Therapy	Initiation Level	LDL Goal
Without CHD and < 2 risk factors	≥ 190 mg/dL	< 160 mg/dL
Without CHD and ≥ 2 risk factors	≥ 160 mg/dL	< 130 mg/dL
With CHD	≥ 130 mg/dL	≤ 100 mg/dL

Факторы риска рассматриваемые в схеме классификации: возраст (мужчины > 45 лет, женщины > 55 лет), семейный анамнез преждевременного ИБС, курение, гипертония и сахарный диабет. ЛВП холестерина считается высоким риском если уровень < 35 мг/дл и учитывается как фактор риска в классификации. ЛВП холестерин > 60 мг/дл считается защитным уровнем и его вычитают из общего числа факторов риска.

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Для контроля правильности выполнения всех этапов методики рекомендуется использовать Control HDL холестерин (кат. ном. 3218) при каждом запуске. Допустимые



Тел. +44 (0)191 482 8440
Факс +44 (0)191 482 8442
Эл. почта info@helena-biosciences.com
www.helena-biosciences.com

Helena Biosciences Europe Queensway South,
Team Valley Trading Estate, Gateshead,
Tyne and Wear, NE11 0SD, United Kingdom

результаты анализа указаны во вкладыше, поставляемом вместе с контролем в упаковке.

КОНТРОЛЬНЫЕ ЗНАЧЕНИЯ

Использовано 30 образцов взятых от нормальных доноров мужчин и женщин с общим уровнем холестерина менее 200 mg/dL, были получены следующие диапазоны референсных значений (они представлены только в качестве ориентира):

Protein Fraction	Mean (%)	± 2SD Range
HDL	27.8	16.4 - 44.0
Lp(a)-C	4.6	0.2 - 17.4
VLDL	10.6	4.1 - 20.9
LDL	57.0	38.2 - 69.6

ТЕХНИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

1) Точность

Band	Within-Run (n = 60)			Between Run (n = 180)		
	Mean	SD	CV (%)	Mean	SD	CV (%)
HDL	23.0	0.4	1.5	23.2	0.9	3.8
Lp(a)-C	2.0	0.1	2.5	2.0	0.1	3.3
VLDL	10.6	0.1	1.1	10.5	0.3	2.8
LDL	64.4	0.3	0.5	64.3	0.9	1.4

Чувствительность

Серийные разведения высокого уровня холестерина в образцах показали чувствительность системы, которая эквивалентна 5,0 мг/дл холестерина на каждую фракцию.

Линейность

Серийные разведения высокого уровня холестерина в образцах показали, что система линейна до 350 мг/дл холестерина на каждую фракцию.

Корреляция

SAS-3 (SPIFE) Холестериновый профиль ЛВП, ЛНП и ЛПОНП количественно сравнивали с методом ультрацентрифугирования и получили следующие результаты:

ЛВП ультрацентрифугированием = 1,0000 x SPIFE холестеринный профиль + 8,0000

$r = 0,9725$; $n = 33$

ЛНП ультрацентрифугирование = 1,0693 x SPIFE холестеринный профиль - 12,8715

$r = 0,9916$; $n = 33$

ЛПОНП ультрацентрифугирование = 1,5470 x SPIFE холестеринный профиль - 13,9402

$r = 0,9012$; $n = 33$

SPIFE холестеринный профиль ЛП (а) количественно сравнивали с коммерчески доступными методами клинической химии ЛП (а) со следующими результатами:

Лп (а)

Клиническая химия = 0,0786 x SPIFE холестеринный профиль + 0,1007

$r = 0,9477$; $n = 57$

ЛИТЕРАТУРА

1. Barr, D.P. et al 'Protein-lipid Relationships in Human Plasma', *Am. J. Med.*, 1951 ; 11 : 480-493.
2. Miller, G.J and Miller, N.E. 'Plasma-High Density-Lipoprotein Concentration and Development of Ischemic Heart Disease', *Lancet*, 1976 ; 1 : 16-19.
3. Kannel, W.B. et al 'Serum Cholesterol, Lipoproteins and the Risk of Coronary Heart Disease' *Ann. Inter. Med.*, 1971 ; 74 (1) : 1-12
4. Gordon, T. et al 'High Density Lipoprotein as a Protective Factor Against Coronary Artery Disease. The Framingham Study', *Am. J. Med.*, 1977 ; 62 : 707-714.
5. Galen, R.S. 'HDL Cholesterol, How Good a Risk Factor?', *Diag. Med.*, 1979 ; Nov/Dec : 39-58.
6. Castelli, W.P. et al 'HDL Cholesterol and Other Lipids in Coronary Heart Disease - The Cooperative Lipoprotein Phenotyping Study' *Circulation*, 1977 ; 55 (5) : 767-772.
7. National Cholesterol Education Program, Second report of the expert panel on detection, evaluation and treatment of high blood cholesterol in adults (Adult Treatment Panel II). NCEP 1993.
8. Delalla, O.F. and Gofman, J.W. 'Ultracentrifugal Analysis of Serum Lipoprotein', in *Methods of*



Тел. +44 (0)191 482 8440
Факс +44 (0)191 482 8442
Эл. почта info@helenabiosciences.com
www.helenabiosciences.com

Helena Biosciences Europe Queensway South,
Team Valley Trading Estate, Gateshead,
Tyne and Wear, NE11 0SD, United Kingdom

Biochemical Analysis, Vol. 1, D. Glick (Ed.), New York, Interscience, 459-478, 1954.

9. Burstein, M. and Scholnick, H.R., 'Precipitation of Chylomicrons and Very Low density Lipoproteins From Human Serum With Sodium Lauryl Sulfate', *Life Sci.*, 1972; 11 : 177-184.

10. Cobb, S.A. and Sanders J.L., 'Enzymic Determination of Cholesterol in Serum Lipoproteins Separated by Electrophoresis', *Clin. Chem.*, 1978; 24(7) : 1116-1120.

11. U.S. Department of Health and Human Services, *Lipid Research Clinics Program. In: Hainline, Jr. A., Karon, J., Lippel, K. (Eds.), Manual of Laboratory Operations 1983. Second Edition, NIH Publication.*

12. Belcher, J.D., McNamara, J.R., Grinstead, G.F., Rifai, N., Warnick, G.R., Bachorik, P. and Frantz Jr., I. 'Measurement of Low Density Lipoprotein Cholesterol Concentration'. In: Rifai, N. and Warnick, G.R (Eds.) *Methods For Clinical Laboratory Measurement of Lipid and Lipoprotein Risk Factors*, Washington D.C. : AACC Press, 1991 : 75-86.

13. Utermann, G. 'The Mysteries Of Lipoprotein (a)', *Science*, 1989; 246 : 904-910.

14. Loscalzo, J., 'Lipoprotein (a) a Unique Risk Factor For Atherothrombotic Disease', *Arteriosclerosis*, 1990; 10 : 672-679.

15. National Cholesterol Education Program Lipoprotein Measurement Working Group. *Recommendations For Measurement Of Low Density Lipoprotein Cholesterol. NIH Publication (In Press).*



Тел. +44 (0)191 482 8440
Факс +44 (0)191 482 8442
Эл. почта info@helena-biosciences.com
www.helena-biosciences.com

Helena Biosciences Europe Queensway South,
Team Valley Trading Estate, Gateshead,
Tyne and Wear, NE11 0SD, United Kingdom

Тест-система "Щелочной гемоглобин" для приборов SAS-MX, SAS-M1, SAS-1, SAS-3 (SAS-MX, SAS-M1, SAS-1, SAS-3 "ALK Hb Kit")

Инструкция по применению

НАЗНАЧЕНИЕ

Тест-система предназначена для разделения гемоглобинов человека методом электрофореза в агарозном геле.

Гемоглобины (Hb) представляют собой группу белков, основной функцией которых является транспортировка кислорода из легких к тканям, а углекислого газа – в обратном направлении. Они состоят из полипептидных цепей, называемых глобинами, и групп ферропротопорфирина (гемов). Специфическая последовательность аминокислот образует каждую из четырех полипептидных цепей. Каждая нормальная молекула гемоглобина состоит из одной пары альфа и одной пары отличных от альфа цепей. В гемоглобине здорового взрослого человека, HbA, цепи, отличные от альфа, именуются бета. Цепи фетального гемоглобина, отличные от альфа, именуются гамма. Незначительная (3%) фракция гемоглобина, именуемая HbA2, содержит альфа и дельта цепи. Две другие цепи формируются в эмбрионе.

Основную часть гемоглобина в эритроцитах здорового взрослого человека составляет HbA наряду с небольшими количествами HbA2 и HbF. Кроме того, в настоящее время известны более 400 мутаций гемоглобинов, некоторые из которых могут оказывать серьезное клиническое воздействие, особенно в гомозиготном состоянии или в комбинации с другим аномальным гемоглобином. Уинтроб¹ (Wintrobe) подразделяет аномалии синтеза гемоглобина на три группы.

1. Производство аномальной молекулы белка (например, серповидноклеточная анемия).
2. Снижение объема синтеза нормального белка (например, талассемия).
3. Аномалии развития (например, наследственная персистенция фетального гемоглобина (HPFH)).

Наиболее часто встречаются две мутации молекулы гемоглобина, HbS и HbC. Менее часто встречаются Hb Lepore, HbE, HbG-Philadelphia, HbD-Los Angeles, HbO-Arab.² Электрофорез обычно считается наилучшим методом разделения и идентификации гемоглобинопатий. Протокол электрофореза гемоглобина включает поэтапное использование двух систем.³⁻⁸ Первичный электрофорез выполняется в щелочном буфере. Тем не менее, по причине электрофоретического сходства множества различных по структуре гемоглобинов, оценку следует дополнять электрофорезом в кислотном буфере, который предназначен для определения свойства, отличного от электрического заряда.

Данный метод основан на сложных взаимодействиях гемоглобина с щелочным электрофоретическим буфером и агарозной основой. Процедура SAS-M1 Alkaline Hb является простой, требующей минимальных количеств гемолизата для обеспечения полной визуализации процедурой (наряду с результатами анализа SAS-M1 Acid Hb-12) в присутствии HbS, HbC и HbF, а также ряда других аномальных гемоглобинов.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ



Тел. +44 (0)191 482 8440
Факс +44 (0)191 482 8442
Эл. почта info@helenabiosciences.com

www.helena-biosciences.com

Helena Biosciences Europe Queensway South,
Team Valley Trading Estate, Gateshead,
Tyne and Wear, NE11 0SD, United Kingdom

Все реагенты предназначены только для диагностического использования в условиях *in-vitro*. Не глотать и не пипетировать ртом ни один компонент набора. Надевать перчатки при работе со всеми компонентами набора. См. паспорт безопасности химического вещества, положения о рисках и обеспечении безопасности, а также информацию об утилизации.

СОСТАВ

1. Гель SAS-I Alkaline Hb

Содержит агарозу в Трис/ЭДТА /глициновом буфере с азидом натрия в качестве консерванта. Гель упакован готовым к употреблению.

2. Кислотный синий краситель, концентрат

Содержит концентрированный кислотный синий краситель. Довести содержимое бутылки до 700 мл с использованием очищенной воды. Перемешать, оставить на ночь, отфильтровать перед использованием. Хранить в бутылки с плотно закрывающейся крышкой.

3. Лизирующий агент для гемоглобина

Содержит Triton X-100 в очищенной воде с цианидом калия и тиомерсалом в качестве консерванта. Лизирующий агент упакован готовым к употреблению.

4. Обесцвечивающий раствор, концентрат

Содержит концентрированный обесцвечивающий раствор. Довести содержимое бутылки до 2-х литров с использованием очищенной воды. Хранить в бутылки с плотно закрывающейся крышкой.

5. Другие компоненты набора

Каждый набор содержит инструкцию по применению и достаточное количество промокатальной бумаги C для выполнения 10 гелей.

УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И СРОК ГОДНОСТИ

1. Гель SAS-I Alkaline Hb

Гель следует хранить при температуре 15-30°C, в этом случае гели сохраняют стабильность до окончания срока годности, указанного на упаковке. НЕ ОХЛАЖДАТЬ И НЕ ЗАМОРАЖИВАТЬ. Испорченный гель можно определить по следующим признакам: 1) кристаллический внешний вид, который указывает на то, что гель был заморожен; 2) ломкость и отслаивание, свидетельствующие о высыхании геля; 3) видимое загрязнение агарозы бактериальными или грибковыми источниками.

2. Кислотный синий краситель

Концентрат красителя следует хранить при температуре 15-30°C, в этом случае он сохраняет стабильность до окончания срока годности, указанного на ярлыке. Раствор красителя стабилен в течение 6 месяцев при температуре 15-30°C. Рекомендуется незамедлительно утилизировать использованный краситель в целях предотвращения снижения окрашивающей способности. Низкая эффективность окрашивания может указывать на порчу раствора красителя.

3. Лизирующий агент для гемоглобина



Тел. +44 (0)191 482 8440
Факс +44 (0)191 482 8442
Эл. почта info@helena-biosciences.com
www.helena-biosciences.com

Helena Biosciences Europe Queensway South,
Team Valley Trading Estate, Gateshead,
Tyne and Wear, NE11 0SD, United Kingdom

Лизирующий агент следует хранить при температуре 15-30°C, в этом случае он сохраняет стабильность до окончания срока годности, указанного на ярлыке. О порче могут свидетельствовать инородные включения или помутнение.

4. Обесцвечивающий раствор

Концентрат обесцвечивающего раствора следует хранить при температуре 15-30°C, в этом случае он сохраняет стабильность до окончания срока годности, указанного на ярлыке. Раствор стабилен в течение 6 месяцев при температуре 15-30°C.

НЕОБХОДИМЫЕ КОМПОНЕНТЫ, НЕ ВКЛЮЧЕННЫЕ В НАБОР

Сушильная печь с принудительным движением воздуха, нагрев до 60-70°C
Солевой раствор (0,85% NaCl)
Очищенная вода

ОТБОР И ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦОВ

Предпочтение следует отдать свежесобранной в ЭДТА или антикоагулированной с использованием гепарина крови. Образцы допускается хранить в охлажденном виде при температуре 2-6°C сроком до 1 недели. Для достижения оптимальных результатов отмытые солевым раствором эритроциты следует использовать для приготовления лизатов. Таким образом исключается возможная интерференция белков плазмы.

- а) Смешать 200µл хорошо перемешанной цельной крови со 1000 µл солевого раствора.
- б) Центрифугировать в целях получения осадка эритроцитов.
- в) Удалить 100µл надосадочной жидкости и утилизировать ее.
- г) Добавить еще 1000µл солевого раствора и хорошо перемешать.
- д) Повторить шаги б-д 2 раза.
- е) После последнего центрифугирования удалить 1000µл надосадочной жидкости и работать с оставшимся образцом как с цельной кровью, или удалить всю надосадочную жидкость и работать с оставшимся образцом как с отмытыми осажденными эритроцитами.

Образцы пациентов с общим гемоглобином 12-15 г/дл разбавить лизирующим агентом в отношении 1:50. Контроли и пробы, не попадающие в указанный диапазон, разбавить для получения концентрации гемоглобина 0,2-0,3 г/дл.

ПРИМЕЧАНИЕ: Для количественного определения A2 образцы следует разбавить непосредственно перед электрофорезом, все образцы должны быть отобраны не ранее чем 24 часа назад.

ПОШАГОВАЯ ПРОЦЕДУРА

ПРИМЕЧАНИЕ: Охлаждающий блок должен быть доведен до комнатной температуры, перед использованием оставить на рабочем столе на ночь.

1. Извлечь гель из упаковки, поместить на бумажное полотенце и промокнуть поверхность геля промокательной бумагой С, утилизировать промокательную бумагу.
2. Выровнять выбранный шаблон для нанесения образца с верхним буфером. Поместить промокательную бумагу А на шаблон и потереть пальцем по прорезям, чтобы обеспечить хороший контакт. Удалить промокательную бумагу и сохранить для использования в шаге 4.



Тел. +44 (0)191 482 8440
Факс +44 (0)191 482 8442
Эл. почта info@helena-biosciences.com
www.helena-biosciences.com

Helena Biosciences Europe Queensway South,
Team Valley Trading Estate, Gateshead,
Tyne and Wear, NE11 0SD, United Kingdom

3. Нанести 1μл образца на каждую прорезь шаблона на 12 строк или 3μл образца на каждую прорезь шаблона на 6 строк, оставить впитаться на 5 минут.
4. После абсорбции образца промокнуть шаблон промокательной бумагой А, оставшейся после выполнения шага 2, и удалить промокательную бумагу и шаблон.
5. Нанести 400μл REP Prep на охлаждающий блок. Поместить гель на центр охлаждающего блока, стороной с агарозой вверх, при этом следует исключить образование пузырьков воздуха под гелем.
6. Поместить крышку на SAS-M1, при этом убедиться, что оба электрода находятся в контакте с соответствующими блоками буфера, сильно нажать для обеспечения контакта.
7. Выполнить электрофорез геля: 150 Вольт, 33 минуты.
8. После электрофореза поместить гель на бумажное полотенце и удалить блоки буфера с использованием средства для удаления блоков геля.
9. Пользователи SAS-2: Выбрать программу теста Alkaline Haemoglobin (Щелочной гемоглобин) для устройства для окрашивания и, следуя указаниям прибора, окрашивать, обесцвечивать и высушить гель.
- i) Погрузить гель в окрашивающий раствор на 5 минут, затем на 30 секунд в обесцвечивающий раствор.
- ii) Сушить гель при 60-70°C.
- iii) Обесцвечивать сухой гель, промыв 2 раза по 2 минуты с использованием обесцвечивающего раствора.
- iv) Быстро промыть гель очищенной водой и высушить.

ПРИМЕЧАНИЕ: Следует очищать электроды после каждого цикла.

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Качественная оценка:

Возможные отличительные черты типов гемоглобина, присутствующих в пробах, могут быть определены посредством визуальной оценки выполненного геля. Гематологические контроли представляют собой маркер для идентификации полос.

Количественная оценка:

Относительное количество по каждому типу гемоглобина на геле можно определить методом денситометрии выполненного геля при 595 нм.

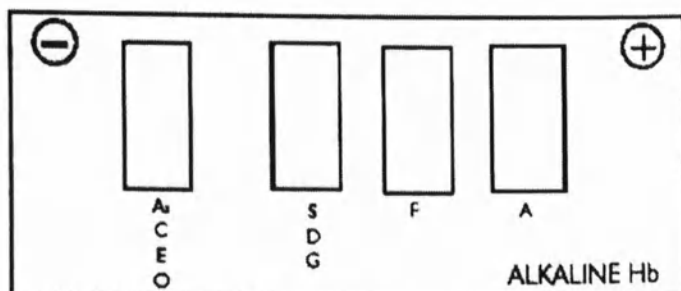


Рис. 1

На Рис. 1 показана возможная идентификация наиболее распространенных типов гемоглобина.



Тел. +44 (0)191 482 8440
Факс +44 (0)191 482 8442
Эл. почта info@helenabiosciences.com
www.helena-biosciences.com

Helena Biosciences Europe Queensway South,
Team Valley Trading Estate, Gateshead,
Tyne and Wear, NE11 0SD, United Kingdom

Большинство вариаций гемоглобина не вызывают каких-либо очевидных клинических симптомов, поэтому они представляют интерес главным образом для ученых и исследователей. Вариации являются клинически значимыми, когда их присутствие обуславливает появление таких нарушений как выработка серповидных форм, синдромы талассемии, стойкий цианоз, гемолитические анемии или эритроцитоз, или если преобладание гетерозиготы таково, что обуславливает необходимость медико-генетического консультирования. Комбинации HbS-S, HbS-D-Los Angeles, HbS-O-Arab обуславливают серьезные нарушения, связанные с выработкой серповидных форм². Несколько вариаций, включая HbH, E-Fort Worth и Lepore, обуславливают талассемическую картину крови².

Две вариации гемоглобинов, характеризующихся наибольшей значимостью в плане частоты выявления и патологий, - это HbS и HbC². Серповидно-клеточная анемия (HbSS) является тяжелой и смертельной болезнью. Она впервые проявляет себя в возрасте 5-6 месяцев. Клиническое течение характеризуется мучительными эпизодами боли и повышения температуры с анемией, вялостью, летаргией и инфарктом практически всех органов тела. Человек с гомозиготной HbCC страдает умеренной гемолитической анемией, которую связывают с осаждением или кристаллизацией HbC в эритроцитах. Случаи заболевания HbSC характеризуются гемолитической анемией, которая протекает менее остро, чем серповидно-клеточная анемия.

Талассемии представляют собой группы гемоглобинопатий, характеризующихся гипохромией и микроцитозом вследствие снижения синтеза одной цепи глобинов (альфа или бета), в то время как синтез других цепей происходит нормально.^{9,10} Такой несбалансированный синтез приводит к нестабильности глобиновых цепей. Они осаждаются в эритроцитах, формируя инородные включения, которые сокращают жизненный цикл клеток. При альфа-талассемии сокращено количество или наблюдается отсутствие альфа-цепей, а при бета-талассемии вышесказанное касается бета-цепей. Другое количественное нарушение синтеза гемоглобина, наследственная персистенция фетального гемоглобина (HPFH), представляет собой генетическое нарушение работы механизмов, которые отключают синтез гамма-цепей в возрасте около 4-х месяцев от рождения, что приводит к постоянному высокому процентному содержанию HbF. В отличие от действительных талассемий это менее опасное состояние, и лица, гомозиготные к HPFH, развиваются нормально, асимптоматичны и не имеют анемии.¹⁰

Наиболее часто встречающиеся гемоглобинопатии:

1) Серповидно-клеточный признак

Это гетерозиготное состояние, характеризующееся HbA и HbS и нормальным количеством HbA₂. Результаты на цитратном агаре показывают гемоглобины в миграционных позициях (зонах) HbA и HbS.

2) Серповидно-клеточная анемия

Это гомозиготное состояние, характеризующееся практически исключительно HbS, при этом может присутствовать незначительное количество HbF.

3) Серповидная-С болезнь

Это гетерозиготное состояние, характеризующееся HbS и HbC.

4) Серповидно-клеточная болезнь – талассемия

Данное состояние характеризуется HbA, HbF, HbS и HbA₂.

При серповидно-клеточной болезни β^0 -талассемии отсутствует HbA.



Тел. +44 (0)191 482 8440
Факс +44 (0)191 482 8442
Эл. почта info@helenabiosciences.com

www.helena-biosciences.com

Helena Biosciences Europe Queensway South,
Team Valley Trading Estate, Gateshead,
Tyne and Wear, NE11 0SD, United Kingdom

При серповидно-клеточной болезни β^+ -талассемии HbA присутствует в ограниченных количествах.

5) Болезнь талассемия-С

Данное состояние характеризуется HbA, HbF, HbC.

6) С-болезнь

Это гомозиготное состояние, демонстрирующее практически исключительно HbC.

7) Большая талассемия

Данное состояние характеризуется HbF, HbA и HbA2.

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Выпускается ассортимент гемоглобиновых контролей, способствующих идентификации неизвестных полос гемоглобина и предназначенных для подтверждения удовлетворительного выполнения теста.

Номер по каталогу 5331 AFSC Гематологический контроль

Номер по каталогу 5330 AFSA2 Гематологический контроль

Номер по каталогу 5329 ASA2 Гематологический контроль

Номер по каталогу 5328 AA2 Гематологический контроль

ОГРАНИЧЕНИЯ

Некоторые аномальные гемоглобины имеют сходную электрофоретическую подвижность, и их следует дифференцировать другими методами.

Дальнейшего тестирования требуют:

1. Электрофорез Hb в кислой среде может быть необходим для подтверждения обнаруженных аномальных гемоглобинов.
2. Анализ глобиновых цепей (как кислотных, так и щелочных), а также структурные исследования могут быть необходимы в целях положительной идентификации некоторых более редко встречающихся гемоглобинов.
3. Анионообменная колонная хроматография является наиболее точным методом количественного определения HbA2. Рекомендуются метод Helena BioSciences Sickie-Thal Quick Column (Номер по каталогу 5334) для количественного определения HbA2 в присутствии HbS, или процедура Helena BioSciences Beta-Thal HbA2 Quick Column (Номер по каталогу 5341). Количественное определение HbA2 является одним из наиболее важных диагностических тестов при диагностировании признака бета-талассемии.
4. Количественное определение низких уровней HbF (1-10%) можно с высокой степенью точности выполнить методом радиальной иммунодиффузии с использованием процедуры Helena BioSciences HbF-QuiPlate (Номер по каталогу 9325).

СПРАВОЧНЫЕ ЗНАЧЕНИЯ

При рождении большая часть гемоглобина в эритроцитах здорового индивидуума представляет собой фетальный гемоглобин, HbF. Также присутствует некоторое количество основного типа гемоглобина взрослого человека, HbA, и малое количество HbA2. На конец первого года жизни и в течение всей взрослой жизни основной тип гемоглобина – это HbA, на фоне до 3,7% HbA2 и менее 2% HbF.

РАБОЧИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

ВОСПРОИЗВОДИМОСТЬ



Тел. +44 (0)191 482 8440
Факс +44 (0)191 482 8442
Эл. почта info@helenabiosciences.com

www.helena-biosciences.com

Helena Biosciences Europe Queensway South,
Team Valley Trading Estate, Gateshead,
Tyne and Wear, NE11 0SD, United Kingdom

		В геле (n=6/12)		Между гелями (n=30/60)	
		Среднее (%)	Кэф.вар.(%)	Среднее (%)	Кэф.вар.(%)
6 образцов	HbA	97,45	0,24	97,30	0,51
	HbA2	2,55	9,17	2,70	18,44
12 образцов	HbA	97,03	0,67	97,31	0,46
	HbA2	2,97	22,04	2,69	16,52

ЛИНЕЙНОСТЬ

Линейность метода – это функция спецификации денситометра, а также эффективность геля. Рекомендуется, чтобы каждый пользователь определил линейность метода, основываясь на используемом в лаборатории денситометре.

БИБЛИОГРАФИЯ

1. Wintrobe, Maxwell M., *Clinical Hematology*, 6th Edition, Lea and Febiger, Philadelphia, 1967. pages 145-167.
2. Fairbanks, V.F., 'The Nomenclature and Taxonomy of Hemoglobin Variants', *Diagnostic Medicine*, Nov/Dec., 53-58, 1980.
3. Schneider, R.G., Hightower, B.J. and Barwick, R.C., 'Laboratory Identification of the Hemoglobins', *Lab Management*, 1981; August: 29-43.
4. Center for Disease Control, *Laboratory Methods for Detecting Hemoglobinopathies*, U.S. Department of Health and Human Services/Public Health Service, 1984.
5. Schneider, R.G., 'Methods for Detection of Hemoglobin Variants and Hemoglobinopathies in the Routine Clinical Laboratory', *CRC Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences*, 1978.
6. Schneider, R.G., Hightower, B., Hosty, T.S., Ryder, H., Tomlin, G., Atkins, R., Brimhall, B., and Jones, R.T., 'Abnormal Hemoglobins in a Quarter Million People', *Blood*, 1976; 48(5) : 629-637.
7. Huisman, T.H.J. and Schroeder, W.A., 'New Aspects of the Structure, Function and Synthesis of Hemoglobins', *CRC Press*, Cleveland, 1971.
8. Schmidt, R.M., Huisman, T.H.J., and Lehmann, H., *The Detection of Hemoglobinopathies*. *CRC Press*, Cleveland, 1974.
9. Weatherall, D.J. and Clegg, J.B., *The Thalassemia Syndromes*, Blackwell Scientific Publications, Oxford, 1972.
10. Lehman, H. and Huntsman, R.G., *Man's Haemoglobins*, J.B. Lippincott Co., Philadelphia, 1974.



Тел. +44 (0)191 482 8440
Факс +44 (0)191 482 8442
Эл. почта info@helenabiosciences.com
www.helena-biosciences.com

Helena Biosciences Europe Queensway South,
Team Valley Trading Estate, Gateshead,
Tyne and Wear, NE11 0SD, United Kingdom

helena

Тест-система «HB-DNA Гели агарозы» HB-DNA Agarose gels

Коды: 1010-20, 1110-20, 1017-20, 1117-20, 1025-20, 1125-20

ПРЕДПОЛАГАЕМОЕ ИСПОЛЬЗОВАНИЕ

Гель HB-DNA предназначен для разрешения молекул ДНК по размеру.

HB-DNA является предварительно подготовленным гелем агарозы в пластиковой кювете, совместимым с различными системами для электрофореза. Молекулы ДНК, различающиеся по размеру, определяются при помощи электрофорезного анализа геля агарозы. ДНК обрабатывается бромидом этидия, а после чего осматривается под УФ светом при длине волны в 254 нм. Гели HB-DNA предлагаются в концентрациях агарозы 1,0%, 1,7% и 2,2% с или без обработки бромидом этидия. Лоток с гелем 10 см шириной и 13 см длиной. Сам гель 7 см шириной и 10 см длиной, с двумя рядами по 10 ячеек.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Гели предназначены только для лабораторного использования. Запрещается проглатывать. Надевайте подходящие перчатки при работе с реагентами. Фразы риска и опасности приведены в соответствии с нормами по химическим веществам (информация об угрозах и упаковка). Размещение знаков угрозы на гелях не является необходимым согласно правилу 9 (7).

СОСТАВ

Набор содержит 10 HB-DNA гелей в пластиковых кассетах заклеенных фольгой (по 2 геля в упаковке). Гели содержат 0,1% азида натрия. (Токсичен при проглатывании. При проглатывании незамедлительно обратитесь к врачу и покажите данную инструкцию или этикетку.)

ХРАНЕНИЕ И СРОК ГОДНОСТИ

Хранить при комнатной температуре (15 - 30 °C). Упаковки необходимо оставить герметичными непосредственно до момента применения.

ПОШАГОВАЯ ПРОЦЕДУРА

Рекомендуется использовать гели HB-DNA вне их оригинальной упаковки, однако, при необходимости допускается проводить анализ в оригинальных лотках. Необходимо заметить, что использование гелей в лотках увеличивает допустимое количество прогонов, и может вызывать искажение полос по краям.

Использование геля HB-DNA вне оригинального лотка.

1. Извлеките лоток из упаковки и аккуратно снимите крышку с лотка. Крышку следует сохранить в случае дальнейшего использования.
2. Аккуратно снимите гель с лотка приподняв один из краев при помощи лопаточки. Гель следует поддерживать снизу по всей длине. Поместите гель в емкость для гелей. Гель можно удерживать в требуемом положении при помощи лотка HB DNA (коды HBTRY01, HBTRY02 и HBTRY04). См. Рис. 1 (выше).

helena

BS EN ISO 9002:1994

FM 27531

зарегистрировано в Англии 179 6207
HL-2-0602P DOI 2002/11(2)

Colima Avenue Sunderland Enterprise
Park Sunderland Tyne & Wear SR5 3XB
Тел.: +44 (0) 191 549 6064
Факс: +44(0) 191 549 6271
E-mail: info@helena-biosciences.com

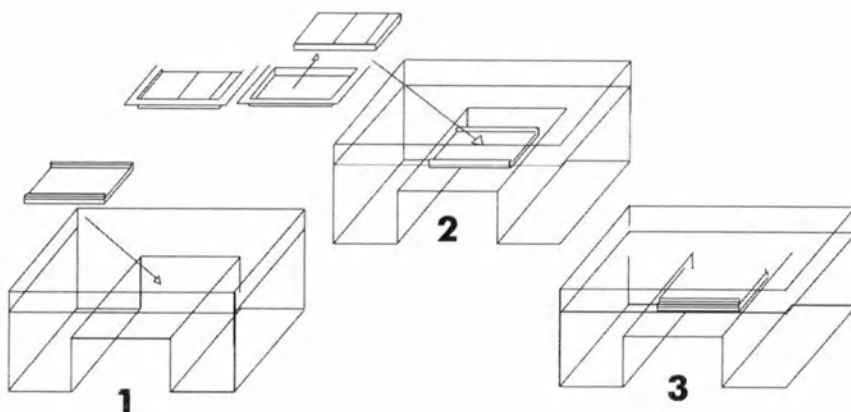


Рис. 1

3. Гелевый блок необходимо заполнить X 0,5 буфера TBE (44,5 мМ борат-трис, 1 мМ EDTA) так, чтобы уровень буфера был приблизительно на 5 мм выше поверхности геля.
4. Загрузите образцы в ячейки. Объем в 10 мкл является оптимальным.
5. Подключите гелевый блок к блоку питания и при расстоянии между электродами 1-5 В/см подавайте напряжение до тех пор, пока исследуемая ДНК не переместится требуемое положение.
6. Если гель содержит бромид этидия, то его можно осматривать под УФ трансиллюминатором при 254 нм. Если гель не содержит бромид этидия, то его можно обработать раствором бромида этидия 0,5 мкг/мл в течении 30 минут. Также используются альтернативные способы обработки ДНК.

Примечание: если необходимо менее 20 ячеек, для первого анализа следует использовать нижние 10 рядов. Крышку лотка геля затем необходимо установить на место, а гель хранить при температуре 4°C до четырех дней. Оставшиеся 10 свободных ячеек допускается затем использовать для второго анализа.

Примеры использования гелей HB-DNA.



Рисунок 2. Разрешение отдельных фрагментов ДНК при помощи 1,0% геля HB-DNA после экстракции из 1,0% геля HB-DNA.

Рисунок 3. Выявление точечной мутации при помощи типирования по длине рестрикционных фрагментов (RFLP) и продуктов PCR с применением 2,2% гелей HB-DNA.

- a. Протромбиновая мутация фактора II
- b. Мутация лейдена фактора V.

Использование геля HB-DNA в оригинальном лотке.

1. Извлеките лоток из упаковки и аккуратно снимите крышку с лотка. Крышку следует сохранить в случае дальнейшего использования.
2. Удалите две клейких пластины и прикрепите к нижней части лотка с гелем. Пластины следует расположить по центру на любом из концов лотка с гелем.
3. Удалите защитное покрытие с двух клейких пластин и прикрепите лоток на держатель. Важно, чтобы лоток с гелем был параллелен сторонам блока для геля, а ячейки располагались у катода.
4. Убедитесь, что из под края лотка с гелем удалено максимально возможное количество воздуха, так как это может оказать влияние на перемещение ДНК к границам геля. Полного удаления воздуха можно добиться проколов край лотка горячей проволокой или лезвием скальпеля перед заполнением буфером.
5. Гелевый блок необходимо заполнить X 0,5 буфера TBE (44 мМ борат-трис, 1 мМ EDTA) так, чтобы уровень буфера был приблизительно на 5 мм выше поверхности геля.
6. Загрузите образцы в ячейки. Объем в 10 мкл является оптимальным.
7. Подключите гелевый блок к блоку питания и при расстоянии между электродами 1-5 В/см подавайте напряжение до тех пор, пока исследуемая ДНК не переместится требуемое положение.
8. Если гель содержит бромид этидия, то его можно осматривать под УФ трансиллюминатором при 254 нм не вынимая из лотка. Если гель не содержит бромид этидия, то его можно обработать раствором бромида этидия 0,5 мкг/мл в течении 30 минут. Также допускается использовать альтернативы ДНК. Чтобы получить качественное фотографическое изображение, гель следует извлечь из лотка.

Пример искажения линий при использовании геля в оригинальном лотке.

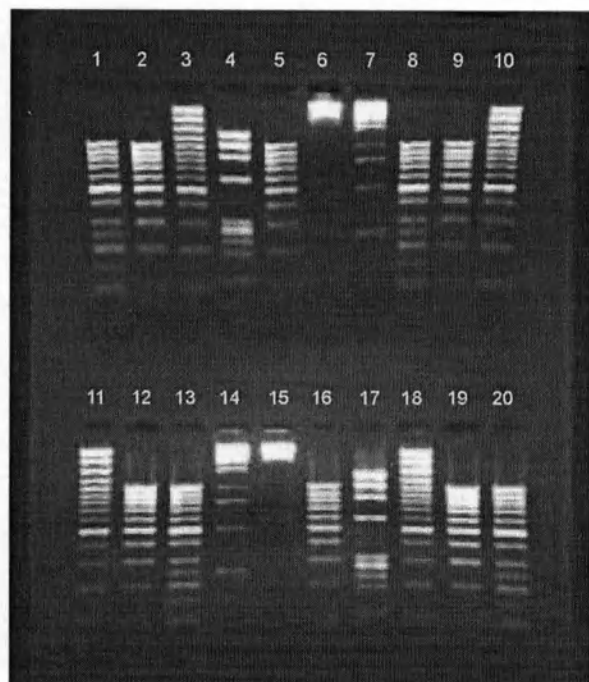


Рис. 4. (слева)

Гель агарозы 1,7%

- Линия 1 50 bp ДНК-лестенка
- Линия 2 100 bp ДНК-лестенка
- Линия 3 100 bp ДНК-лестенкаPlus
- Линия 4 □ 174 ДНК/BsuRI Ladder
- Линия 5 100 bp ДНК-лестенка
- Линия 6 λДНК/H/nd III лестенка
- Линия 7 1 Kb ДНК-лестенка
- Линия 8 50 bp ДНК-лестенка
- Линия 9 100 bp ДНК-лестенка
- Линия 10 100 bp ДНК-лестенкаPlus
- Линия 11 100 bp ДНК-лестенкаPlus
- Линия 12 100 bp ДНК-лестенка
- Линия 13 50 bp ДНК-лестенка
- Линия 14 1 Kb ДНК-лестенка
- Линия 15 λДНК/H/nd III лестенка
- Линия 16 100 bp ДНК-лестенка
- Линия 17 □ 174 ДНК/BsuRI лестенка
- Линия 18 100 bp ДНК-лестенка Plus
- Линия 19 100 bp ДНК-лестенка
- Линия 20 50 bp ДНК-лестенка

Спецификации геля

Код	Концентр. агарозы	Диап. размеров	Кол-во образцов	Бромид этидия	Буфер	Лоток Д x Ш	Гель Д x Ш	Кол-во
1010-20	1,0%	500-10000	20	Да	TBE	130 x 100 мм	100 x 70 мм	10 гелей
1110-20	1,0%	500-10000	20	Нет	TBE	130 x 100 мм	100 x 70 мм	10 гелей
1017-20	1,7%	80-3000	20	Да	TBE	130 x 100 мм	100 x 70 мм	10 гелей
1117-20	1,7%	80-3000	20	Нет	TBE	130 x 100 мм	100 x 70 мм	10 гелей
1025-20	2,2%	50-3000	20	Да	TBE	130 x 100 мм	100 x 70 мм	10 гелей
1125-20	2,2%	50-3000	20	Нет	TBE	130 x 100 мм	100 x 70 мм	10 гелей

НАЗНАЧЕНИЕ

V-CE Urine analysis column kit (комплектная колонка для исследования мочи V-K3), используемая совместно с the V-CE Serum Protein 5-band kit (пятиполосным комплектом для анализа сывороточных белков V-K3) предназначена для разделения и количественного анализа белков мочи с помощью капиллярного электрофореза (КЭ).

Белки, содержащиеся в моче, в основном относятся к белкам плазмы, фильтрующимся через почки. Аномальное появление белков плазмы в моче играет ценную роль в исследовании функции почек. Исследование при протеинурии должно включать определения типа и количества экскретируемых белков.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Реактивы, содержащиеся в этом комплекте, предназначены только для диагностики *in vitro*. Не глотайте и не капайте пипеткой в рот какие-либо компоненты комплекта. При манипуляциях со всеми компонентами комплекта используйте перчатки. Данные по безопасности продукта, формулировки, касающиеся безопасности, и сведения об утилизации приведены в спецификации продукта в отношении безопасности.

СОСТАВ

1. Urine Protein Buffer - буфер для анализа белков мочи. REF HL-3-2124SA (3 x 100 мл). Каждый комплект содержит Urine Protein Buffer (буфер для анализа белков мочи) в количестве, достаточном для 20 анализов. Буфер готов к применению.

2. Колонки для обессоливания при определении белков мочи (x 20). Колонки готовы к применению.

3. Инструкция по применению. В каждом комплекте имеется инструкция по применению.

ХРАНЕНИЕ И СРОК ГОДНОСТИ

1. Urine Protein Buffer - буфер для анализа белков мочи. Urine Protein Buffer (буфер для анализа белков мочи) следует хранить при 15-30°C; он стабилен до истечения срока годности, указанного на этикетке. Открытые флаконы стабильны в течение 4 недель при 15-30°C.

НЕОБХОДИМЫЕ КОМПОНЕНТЫ, НЕ ВКЛЮЧЕННЫЕ В КОМПЛЕКТ ПОСТАВКИ

REF 800100 V-CE Serum Protein 5-band kit — пятиполосный комплект для анализа сывороточных белков

REF 830100 V-CE Storage Buffer — буфер для хранения

REF 830200 V-CE Maintenance Buffer — буфер для поддержания

НЕОБЯЗАТЕЛЬНЫЕ КОМПОНЕНТЫ

REF 800300 V-CE Immunodisplacement kit — комплект для иммуновытеснения (если проводится иммуновытеснение в сыворотке или моче)

REF 820500 V-CE Anti-Free kappa anti-sera — антисыворотки к свободным каппа-цепям (если проводится иммуновытеснение в сыворотке или моче)

REF 820600 V-CE Anti-Free lambda anti-sera — антисыворотки к свободным лямбда-цепям (если проводится иммуновытеснение в сыворотке или моче)

REF 821400 V-CE Anti-IgD anti-sera — антисыворотки к IgD (если проводится иммуновытеснение в сыворотке или моче)

REF 821500 V-CE Anti-IgE kappa anti-sera — антисыворотки к каппа-цепи IgE (если проводится иммуновытеснение в сыворотке или моче)

ОТБОР И ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦОВ

Оптимальный образец для анализа мочи — свежесобранная моча (суточная). Образцы можно хранить при 2-6°C на протяжении срока до 7 суток. Для более длительного хранения рекомендуется температура -70°C, при которой образцы можно хранить на протяжении срока до 1 месяца. НЕ ХРАНИТЕ образцы при -20°C.

ПОЭТАПНАЯ ПРОЦЕДУРА

1. Снимите верхнюю и нижнюю крышки с колонки для обессоливания и дайте стечь из колонки лишней жидкости. Поддерживайте колонку над соответствующей емкостью для вытекающей жидкости, чтобы уловить поток буфера.

Примечание: если в колонке останется лишняя жидкость, поток через колонку будет слишком медленным.

2. Залейте в колонку 10 мл Urine Protein Buffer (буфера для определения белка в моче) и дождитесь, пока жидкость не распределится равномерно.

Примечание: такой объем соответствует 3 полным циклам заполнения колонки.

3. Дождитесь, пока Urine Protein Buffer (буфер для определения белков мочи) полностью не затечет в гель под действием силы тяжести. Не создавайте положительное давление.

4. После окончания протекания буфера через колонку, добавьте образец мочи в колонку до максимального объема 0,5 мл. Дождитесь, пока образец полностью не затечет в гель.

5. Добавьте 0,2 мл Urine Protein Buffer (буфера для определения белков мочи) в верхнюю часть колонки. Дождитесь, пока буфер полностью не затечет в гель.

6. Поместите под колонкой сборную трубку соответствующего размера. Элюируйте образец мочи 0,7 мл Urine Protein Buffer (буфера для определения белков мочи). Конечный объем должен составлять 0,7 мл.

7. Утилизируйте использованную колонку для обезоливания.

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Большинство моноклональных белков перемещается в катодный гамма-участок белковой дорожки, но поскольку эти белки аномальны, они могут двигаться при электрофорезе белков в любой участок глобулинов.

Когда аномальный белок содержится в низких концентрациях, полоса аномального белка может выглядеть как полоса внутри нормального поликлонального иммуноглобулина. Также можно увидеть полосу на фоне поликлонального белка, где также присутствует большой поликлональный иммуноглобулин.

Тип протеинурии	Выявленные полосы	Присутствующие белки
Нормальная моча	Небольшой альбумин	Альбумин
Клубочковая	Альбумин, альфа-1, бета, гамма	Альбумин, альфа-1, антитрипсин, трансферрин, гамма-глобулины
Канальцевая	альфа-1, альфа-2, бета	Белок, связывающий ретинол, бета2-микроглобулин, альфа-2-микроглобулин.
Гиперпротеинурия	гамма или различные	иммуноглобулины, свободные легкие цепи

НЕДОСТАТКИ

1. Реакция с антисыворотками к легким цепям каппа или лямбда, но отсутствует реакция с антисыворотками к тяжелым цепям IgG, IgA или IgM. Образцы, в которых это наблюдается, могут указывать либо на моноклональную гаммапатию со свободными цепями, либо содержать моноклональный белок IgD или IgE. В такой ситуации анализ на IgD следует повторить, заменив антисыворотки к IgD и IgE на другие антисыворотки к другим тяжелым цепям. Отсутствие реакции с антисыворотками к IgD или IgE будет указывать на болезнь свободных легких цепей.

2. Полоса в гамма-участке, не реагирующая с антисыворотками во время электрофореза с иммунофиксацией. У больных с острой воспалительной реакцией может выявляться С-реактивный белок (СРБ).^{1,2} Повышенные уровни альфа-1-антитрипсина и гаптоглобина — дополнительные свидетельства в пользу СРБ.

3. Отсутствие реакции с антисыворотками к цепям каппа и лямбда. В отдельных случаях образец будет реагировать с антисывороткой к тяжелым цепям, но не к легким цепям. В такой ситуации следует исключить:

- а) болезнь тяжелых цепей;
- б) очень высокие концентрации легких цепей, что ведет к избытку антигена;
- в) низкие концентрации легких цепей;
- г) атипичные молекулы легких цепей, не реагирующие с антисывороткой;
- д) легкие цепи со «скрытыми» детерминантами легких цепей (как иногда наблюдается в отношении IgA и IgD).

Чтобы получить однозначные результаты, в ходе анализа могут потребоваться:

- а) большая или меньшая степень разведения образца для оптимизации соотношения антигено/антиген,
- б) обработка образца β-2-меркаптоэтанолом для «проявления» легких цепей.

ХАРАКТЕРИСТИКИ МЕТОДА

Проведены серии анализов и сравнение с коммерческим тест-комплектom, при этом оба комплекта показали одинаковые результаты.

Чувствительность:

Методом анализа мочи КЗ-V8 можно выявлять белки в моче, эквивалентные одной полосе при уровне мг/л.

196

ЛИТЕРАТУРА

1. Jeppsson, J.O., Laurell, C.B. and Franzen, B., 'Agarose Gel Electrophoresis', Clin. Chem., 1979; 25 (4) : 629-638.
2. Killingsworth, L.M., Cooney, S.K. and Tyllia, M.M., 'Protein Analysis', Diagnostic Medicine, 1980; Jan/Feb : 3-15.

Тест-система «SPE белки сыворотки» для прибора V8 - V8 Serum Protein SPE kit.

Инструкция по применению

REF 800100

Helena Biosciences Europe
Queensway South
Team Valley Trading Estate
Gateshead
Tyne and Wear
NE11 0SD
Тел. +44 (0)191 482 8440
Факс +44 (0)191 482 8442
Эл. почта info@helena-biosciences.com
www.helena-biosciences.com



HL-2-1829P 2008/12 (1)

НАЗНАЧЕНИЕ

V-CE Serum Protein 5-band kit (пятиполосный комплект V-КЭ для анализа сывороточных белков) предназначен для разделения и количественного анализа сывороточных белков с помощью капиллярного электрофореза (КЭ).

В сыворотке содержится больше 100 различных белков, обладающих определенными свойствами и изменяющимися определенным образом по концентрации при различных патологических состояниях.¹ С момента внедрения Tiselius² электрофореза в свободном потоке и последующего применения зонного электрофореза сывороточные белки были разделены с уровнем их заряда при соответствующем значении pH. С помощью комплекта V-CE Serum Protein 5-band kit (пятиполосного комплекта V-КЭ для анализа сывороточных белков) производится разделение сывороточных на 5 главных классов (альбумин, альфа-1-глобулин, альфа-2-глобулин, бета-глобулин и гамма-глобулин). В каждой проведенной электрофорезе, за исключением альбумина, содержится, как минимум, 2 компонента. Относительное содержание этих фракций оказалось полезным показателем в диагностике и прогнозе некоторых патологических состояний.³⁻⁵

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Реактивы, содержащиеся в этом комплекте, предназначены только для диагностики in vitro. Не глотайте и не капайте пипеткой в рот какие-либо компоненты комплекта. При манипуляциях со всеми компонентами комплекта используйте перчатки. Данные по безопасности продукта, формулировки, касающиеся безопасности, и сведения об утилизации приведены в спецификации продукта в отношении безопасности.

СОСТАВ

1. Serum Protein Buffer (буфер для анализа сывороточных белков). REF HL-3-2118SA (1 x 500 анализов). Каждый флакон содержит Serum Protein Buffer (буфер для анализа сывороточных белков) в количестве, достаточном для 500 анализов. Serum Protein Buffer (буфер для анализа сывороточных белков) готов к применению, и его следует помещать в соответствующее место на инструменте Helena V8 согласно инструкции в руководстве пользователя.
2. Фильтр, REF HL-3-2130SA (x1). Фильтр следует устанавливать на входную трубку переходника для флакона с Serum Protein Buffer (буфером для анализа сывороточных белков) инструмента Helena V8 согласно инструкции в руководстве пользователя. Фильтр предназначен для одноразового использования, и при замене Serum Protein Buffer (буфера для анализа сывороточных белков) его тоже следует заменять.
3. Стаканчики для образцов, REF HL-3-2134SA (4 x 36). Стаканчики для образцов следует устанавливать на инструменте Helena V8 согласно руководству пользователя.
4. Прочие компоненты комплекта. В каждом комплекте имеется инструкция по применению.

ХРАНЕНИЕ И СРОК ГОДНОСТИ

1. Serum Protein Buffer (буфер для анализа сывороточных белков). Serum Protein Buffer (буфер для анализа сывороточных белков) следует хранить при 15-30°C: он стабилен до истечения срока годности, указанного на этикетке. Открытые флаконы, установленные на инструменте Helena V8, стабильны в течение 6 месяцев при 15-30°C.

НЕОБХОДИМЫЕ КОМПОНЕНТЫ, НЕ ВКЛЮЧЕННЫЕ В КОМПЛЕКТ ПОСТАВКИ

REF 830100 V-CE Storage Buffer — буфер для хранения
REF 830200 V-CE Maintenance Buffer — буфер для поддержания

НЕОБЯЗАТЕЛЬНЫЕ КОМПОНЕНТЫ

REF 800300 V-CE Immunodisplacement kit — комплект для иммуновытеснения (если проводится иммуновытеснение в сыворотке или моче)
REF 800400 V-CE Urine analysis centrifugation kit 5-band — пятиполосный комплект для центрифугирования при анализе мочи (если проводится преаналитическое концентрирование и обессоливание с использованием мембранных концентраторов при анализе мочи)
REF 800405 V-CE Urine analysis column kit 5-band — пятиполосный комплект для колонки при анализе мочи (если проводится преаналитическое обессоливание при анализе мочи с использованием колоночной хроматографии)
REF 820500 V-CE Anti-Free kappa anti-sera — антисыворотка к свободной цепи каппа (если проводится иммуновытеснение в сыворотке или моче)
REF 820600 V-CE Anti-Free lambda anti-sera — антисыворотка к свободной цепи лямбда (если проводится иммуновытеснение в сыворотке или моче)
REF 821400 V-CE Anti-IgD anti-sera — антисыворотка к IgD (если проводится иммуновытеснение в сыворотке или моче)

ОТБОР И ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦОВ

Оптимальный образец — свежая сыворотка. Образцы можно хранить при 15-30°C в течение срока до 4 суток, при 2-6°C — до 14 суток и при -20°C — до 6 месяцев. Использование плазмы приведет к образованию полосы фибриногена между бета- и гамма-фракциями.

ПОБОЧНЫЕ ФАКТОРЫ

1. Гемолиз может вызывать ложное повышение альфа-2- и бета-фракций.
2. Неточные результаты возможны из-за испарения, когда образцы оставляют в незакрытом виде.

ПОСТАПНАЯ ПРОЦЕДУРА

1. Убедитесь, что имеется выдвижной ящик для емкости для отходов, и он пуст.
2. До перехода к V8 убедитесь, что имеются буфер для хранения, буфер для поддержания и одноразовые стаканчики, и они находятся в соответствующих положениях. Установка всех расходных компонентов описана в руководстве пользователя.
3. Переключитесь на инструмент Helena V8, как описано в руководстве пользователя.
4. При заполнении V8 запустите Platinum 4V и начните новый сеанс КЗ. В Platinum 4V выберите 'CE SYSTEM' (СИСТЕМА КЗ) из выпадающего меню, нажмите на 'DEFAULT METHOD' (МЕТОД ПО УМОЛЧАНИЮ) и выберите V8 Serum Protein 5 band (пятиполосный комплект V8 для определения сывороточных белков) или V8 Urine Protein 5 band (комплект V8 для определения белков мочи) в зависимости от того, какой анализ требуется провести.
5. Выбор определенных анализов описан в руководстве пользователя.
6. Вставьте флакон с V-CE Serum Protein 5-band (буфером для пятиполосного анализа сывороточных белков V-КЗ) в отделение для флаконов с жидкостями на инструменте Helena V8 и убедитесь, что он находится в правильном положении. Чтобы правильно установить флакон с V-CE Serum Protein 5-band (буфером для пятиполосного анализа сывороточных белков V-КЗ) прежде чем устанавливать его на инструменте Helena V8, убедитесь, что на входную трубку переходника для флакона с буфером установлен новый фильтр (см. руководство пользователя).
7. После установки флакона с V-CE Serum Protein 5-band (буфером для пятиполосного анализа сывороточных белков V-КЗ) автоматически откроется окно 'DEFINE BUFFER' (ОПРЕДЕЛЕНИЕ БУФЕРА) в Platinum 4V. Отсканируйте или введите штрих-код в поле позиции буфера, совпадающий с позицией буфера.
8. Когда V8 будет готов для обработки образцов, на инструменте начнет мигать красный индикатор.
9. Поместите пробирки с первичными образцами в подставку для образцов и убедитесь, что штрих-код четко виден через окошко в подставке (см. руководство пользователя).
10. Установите подставки для образцов на левую половину транспортной области V8 и закройте крышку, как описано в руководстве пользователя.
11. V8 автоматически начнет анализ всех загруженных образцов, и результаты будут передаваться в Platinum 4V.
12. После анализа и при необходимости запустите режим прекращения работы V8, выключив инструмент, как описано в руководстве пользователя.

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Рекомендуется проводить оценку дорожки КЗ против нормальных значений, полученных данным методом в каждой лаборатории.

Полный обзор анализа сывороточных белков приведен в работе Ritzmann, S.E, 1982.⁵ Исследования показали, что значения у мужчин и небеременных женщин одинаковы. У беременных на поздних сроках и женщин, принимающих противозачаточные средства, имеются некоторые отличия.

Некоторое влияние на нормальные значения оказывает возраст. В пуповинной крови снижено содержание общего белка, альбумина, альфа-2- и бета-фракций, несколько повышено содержание альфа-1-фракции, а содержание гамма-фракции нормально или повышено (в основном материнского происхождения). Гамма-глобулины быстро снижаются к 3-месячному возрасту, в то время как другие фракции к этому времени достигают величин, характерных для взрослых. Уровни гамма-глобулинов, характерные для взрослых, достигаются только к 10-16-летнему возрасту. Содержание альбумина и бета-глобулина повышается после 40 лет.

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Для верификации всех стадий процедуры анализа сывороточных белков можно использовать контрольные сыворотки Helena Biosciences Kentrol Serum Controls (кат. номера 7024 и 7025). Соответствующие показатели приведены во вкладыше к упаковке.

661

НЕДОСТАТКИ

Использование старых или замороженных образцов может приводить к сужению бета-фракции. Гемолиз может вызывать ложное повышение альфа-2- и бета-фракций.

НОРМАЛЬНЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ

По 20 образцам доноров мужчин и женщин в возрасте 20-60 лет определены следующие нормальные показатели (представлены только для справки):

Белковая фракция	Среднее значение (%)	Диапазон $\pm 2SD$
Альбумин	61	55-65
Альфа-1	4	3-5
Альфа-2	9	7-11
Бета	11	9-15
Гамма	15	13-17

ХАРАКТЕРИСТИКИ МЕТОДА

В компании Helena Biosciences определены следующие характеристики метода, приведенные для справки. В каждой лаборатории следует определять собственные характеристики.

Точность:

	Воспроизводимость в пределах одного анализа (n = 30)		Воспроизводимость между разными анализами (n = 300)		Воспроизводимость между разными партиями (n = 3) (N = 30)	
	Среднее значение (%)	Коэффициент вариации (%)	Среднее значение (%)	Коэффициент вариации (%)	Среднее значение (%)	Коэффициент вариации (%)
Альбумин	61	0,9	61	0,9	61	0,9
Альфа-1	4	1,8	4	1,8	4	1,8
Альфа-2	9	1,9	9	1,9	9	1,9
Бета	11	1,9	11	1,9	11	1,9
Гамма	15	1,3	15	1,3	15	1,3

Чувствительность:

Метод анализа сывороточных белков КЭ V8 способен выявлять сывороточные белки при концентрации мкг/мл.

Достоверность:

Сравнение с коммерческим полуавтоматическим методом определения сывороточных белков с помощью гель-электрофореза дал следующий результат:

$$y = 0.9999 + 0.313, r^2 = 0.886$$

ЛИТЕРАТУРА

1. Alper, C.A. 'Plasma Protein Measurements as a Diagnostic Aid'. N. Eng. J. Med., 1974; 291 : 287-290.
2. Tiselius, A. 'A New Apparatus for Electrophoretic Analysis of Colloidal Mixtures', Trans. Faraday Soc., 1937; 33 : 524.
3. Ritzmann, S.E. and Daniels, J.C. 'Diagnostic Proteinology: Separation and Characterization of Proteins, Qualitative and Quantitative Assays' in Laboratory Medicine, Harper and Row, Inc., Hagerstown, 1979.
4. Tietz, N.W. (Ed.), Textbook of Clinical Chemistry, W.B. Saunders Co., Philadelphia, pages 579-582, 1986.
5. Ritzmann, S.E. (Ed.), Protein Abnormalities Volume 1 : Physiology of Immunoglobulins - Diagnostic and Clinical Aspects', Allen R. Liss, Inc., New York, 1982.

Тест-система «Антисыворотки к Анти-IgD/Анти-IgE» для прибора V8 (V8 Anti-IgD/Anti-IgE kit)

НАЗНАЧЕНИЕ

Тест-система Антисыворотки к Анти-IgD/Анти-IgE предназначена для скрининга образцов сыворотки и мочи на моноклональные гаммапатии методом капиллярного электрофореза на приборе V-8 производства компании Helena. Используется только вместе с тест-системой «Иммунозамещение».

Максимальная потребность в иммунозамещении имеется в клинической лаборатории, где этот метод применяется преимущественно для выявления моноклональных гаммапатий. Моноклональная гаммапатия — это первичная патология, при которой один единственный клон плазматических клеток вырабатывает повышенные уровни иммуноглобулина одного класса и типа. Такие иммуноглобулины называют моноклональными белками, М-белками или параптеинами. Их наличие может не представлять опасности, а может оставаться невыясненным. В некоторых случаях такие белки являются признаком злокачественной опухоли, такой как миеломная болезнь или макроглобулинемия Вальденстрема. Моноклональные гаммапатии необходимо отличать от поликлональных, так как поликлональные гаммапатии — вторичные патологические состояния, обусловленные такими заболеваниями, как хронические болезни печени, коллагенозы, ревматоидный артрит и хронические инфекции.

Белки, содержащиеся в моче, в основном относятся к белкам плазмы, фильтрующимся через почки. Аномальное появление белков плазмы в моче играет важную роль в исследовании функции почек. Исследование при протеинурии должно включать определения типа и количеств экскретируемых белков.¹⁻⁵ Комбинация электрофоретического разделения белков мочи вместе с идентификацией типов белков методом иммунопреципитации позволяет дифференцировать несколько типов протеинурии — физиологическую, клубочковую (селективную и неселективную), канальцевую и протеинурию, сочетающуюся с дисглобулинемиями.¹⁻⁵

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Все реагенты предназначены только для диагностического использования в условиях *in-vitro*. Не глотать и не пипетировать ртом ни один компонент набора. Надевать перчатки при работе со всеми компонентами набора. См. паспорт безопасности химического вещества, положения о рисках и обеспечении безопасности, а также информацию об утилизации.

СОСТАВ

1. Антисыворотка к Анти-IgD/Анти-IgE

Состав: в набор входит 1 флакон содержащий 2 ml сыворотки (этого количества достаточно для проведения 50 определений), которая содержит смесь антител к свободным тяжелым цепям человеческих иммуноглобулинов IgD и IgE. Сыворотки были приготовлены из биологического материала (кровь козы) и содержат стабилизаторы и азид натрия в качестве консерванта.

2. Другие компоненты набора

Каждый набор содержит инструкцию по применению.

УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И СРОК ГОДНОСТИ



Тел. +44 (0)191 482 8440
Факс +44 (0)191 482 8442
Эл. почта info@helena-biosciences.com
www.helena-biosciences.com

Helena Biosciences Europe Queensway South,
Team Valley Trading Estate, Gateshead,
Tyne and Wear, NE11 0SD, United Kingdom

Антисыворотку к Анти-IgD/Анти-IgE цепям следует хранить при 2-6°C, и она стабильна до истечения срока годности, указанного на этикетке. Открытые флаконы, хранящиеся на борту анализатора V8 стабильны в течение 4 недель.

ПРИМЕНЕНИЕ

Антисыворотка используется только с оборудованием и гелями производства компании Helena. Пошаговая инструкция приведена в руководстве к анализаторе V-8.



Тел. +44 (0)191 482 8440
Факс +44 (0)191 482 8442
Эл. почта info@helena-biosciences.com
www.helena-biosciences.com

Helena Biosciences Europe Queensway South,
Team Valley Trading Estate, Gateshead,
Tyne and Wear, NE11 0SD, United Kingdom

Тест-система «Антисыворотки к свободным Каппа/Лямбда цепям» для прибора V8 (V8 Free Kappa/Free Lambda kit).

НАЗНАЧЕНИЕ

Антисыворотка к свободным Каппа/Лямбда-цепям предназначена для скрининга образцов сыворотки и мочи на моноклональные гаммапатии методом капиллярного электрофореза на системе V-8 производства компании Helena. Используется только вместе с тест-системой «Иммунозамещение».

Максимальная потребность в иммунозамещении имеется в клинической лаборатории, где этот метод применяется преимущественно для выявления моноклональных гаммапатий. Моноклональная гаммапатия — это первичная патология, при которой один единственный клон плазматических клеток вырабатывает повышенные уровни иммуноглобулина одного класса и типа. Такие иммуноглобулины называют моноклональными белками, М-белками или парапротеинами. Их наличие может не представлять опасности, а может оставаться невыясненным. В некоторых случаях такие белки являются признаком злокачественной опухоли, такой как миеломная болезнь или макроглобулинемия Вальденстрёма. Моноклональные гаммапатии необходимо отличать от поликлональных, так как поликлональные гаммапатии — вторичные патологические состояния, обусловленные такими заболеваниями, как хронические болезни печени, коллагенозы, ревматоидный артрит и хронические инфекции.

Белки, содержащиеся в моче, в основном относятся к белкам плазмы, фильтрующимся через почки. Аномальное появление белков плазмы в моче играет важную роль в исследовании функции почек. Исследование при протеинурии должно включать определения типа и количеств экскретируемых белков.¹⁻⁵ Комбинация электрофоретического разделения белков мочи вместе с идентификацией типов белков методом иммунопреципитации позволяет дифференцировать несколько типов протеинурии — физиологическую, клубочковую (селективную и неселективную), канальцевую и протеинурию, сочетающуюся с дисглобулинемиями.¹⁻⁵

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Все реагенты предназначены только для диагностического использования в условиях *in-vitro*. Не глотать и не пипетировать ртом ни один компонент набора. Надевать перчатки при работе со всеми компонентами набора. См. паспорт безопасности химического вещества, положения о рисках и обеспечении безопасности, а также информацию об утилизации.

СОСТАВ

1. Антисыворотка к свободным Каппа/Лямбда-цепям

Состав: в набор входит 1 флакон содержащий 2 ml сыворотки (этого количества достаточно для проведения 50 определений), которая содержит смесь антител к свободным легким цепям человеческих иммуноглобулинов лямбда и каппа. Сыворотки были приготовлены из биологического материала (кровь козы) и содержат стабилизаторы и азид натрия в качестве консерванта.

2. Другие компоненты набора

Каждый набор содержит инструкцию по применению.

УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И СРОК ГОДНОСТИ



Тел. +44 (0)191 482 8440
Факс +44 (0)191 482 8442
Эл. почта info@helena-biosciences.com
www.helena-biosciences.com

Helena Biosciences Europe Queensway South,
Team Valley Trading Estate, Gateshead,
Tyne and Wear, NE11 0SD, United Kingdom

The logo for Helena Biosciences, featuring the word "helena" in a lowercase, serif font, with "biosciences" in a smaller, sans-serif font underneath.

Антисыворотка к свободным каппа/лямбда цепям следует хранить при 2-6°C, и она стабильна до истечения срока годности, указанного на этикетке. Открытые флаконы, хранящиеся на борту анализатора V8 стабильны в течение 4 недель.

ПРИМЕНЕНИЕ

Антисыворотка используется только с оборудованием и гелями производства компании Helena. Пошаговая инструкция приведена в руководстве к анализаторе V-8.



Тел. +44 (0)191 482 8440
Факс +44 (0)191 482 8442
Эл. почта info@helena-biosciences.com
www.helena-biosciences.com

Helena Biosciences Europe Queensway South,
Team Valley Trading Estate, Gateshead,
Tyne and Wear, NE11 0SD, United Kingdom

Тест-система «Белки в моче (колоночный метод) 6 фракций, высокое разрешение» для прибора V8 - V8 Urine Analysis Column 6-band Zoom kit.

Инструкция по применению

REF 800406

Helena Biosciences Europe
Queensway South
Team Valley Trading Estate
Gateshead
Tyne and Wear
NE11 0SD
Тел. +44 (0)191 482 8440
Факс +44 (0)191 482 8442
Эл. почта info@helena-biosciences.com
www.helena-biosciences.com



HL-2-1886P 2008/12 (1)

НАЗНАЧЕНИЕ

Комплектная колонка для исследования мочи V-КЭ, используемая совместно с V-CE Serum Protein 6-band kit (шестиполосным комплектом для анализа сывороточных белков V-КЭ) предназначена для разделения и количественного анализа белков мочи с помощью капиллярного электрофореза (КЭ).

Белки, содержащиеся в моче, в основном относятся к белкам плазмы, фильтрующимся через почки. Аномальное появление белков плазмы в моче играет ценную роль в исследовании функции почек. Исследование при протеинурии должно включать определения типа и количества экскретируемых белков.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Реактивы, содержащиеся в этом комплекте, предназначены только для диагностики *in vitro*. Запрещается глотать и вводить пипеткой в рот какие-либо компоненты комплекта. При манипуляциях со всеми компонентами комплекта используйте перчатки. Данные по безопасности продукта, формулировки, касающиеся безопасности, и сведения об утилизации приведены в спецификации продукта в отношении безопасности.

СОСТАВ

1. Urine Protein Buffer - буфер для анализа белков мочи. REF HL-3-2141SA (3 x 100 мл). Каждый комплект содержит буфер для анализа белков мочи в количестве, достаточном для 20 анализов. Буфер готов к применению.
2. Колонки для обессоливания при определении белков мочи (x 20). Колонки готовы к применению.
3. Инструкция по применению. В каждом комплекте имеется инструкция по применению.

ХРАНИЕНИЕ И СРОК ГОДНОСТИ

1. Urine Protein Buffer (буфер для анализа белков мочи). Urine Protein Buffer (буфер для анализа белков мочи) следует хранить при 15-30°C; он стабилен до истечения срока годности, указанного на этикетке. Открытые флаконы стабильны в течение 4 недель при 15-30°C.

НЕОБХОДИМЫЕ КОМПОНЕНТЫ, НЕ ВКЛЮЧЕННЫЕ В КОМПЛЕКТ ПОСТАВКИ

- REF 800200 V-CE Serum Protein 6-band kit — шестиполосный комплект для анализа сывороточных белков
 REF 830100 V-CE Storage Buffer — буфер для хранения
 REF 830200 V-CE Maintenance Buffer — буфер для поддержания

НЕОБЯЗАТЕЛЬНЫЕ КОМПОНЕНТЫ

- REF 800300 V-CE Immunodisplacement kit — комплект для иммуновытеснения (если проводится иммуновытеснение в сыворотке или моче)
 REF 820500 V-CE Anti-Free kappa anti-sera — антисыворотки к свободным каппа-цепям (если проводится иммуновытеснение в сыворотке или моче)
 REF 820600 V-CE Anti-Free lambda anti-sera — антисыворотки к свободным лямбда-цепям (если проводится иммуновытеснение в сыворотке или моче)
 REF 821400 V-CE Anti-IgD anti-sera — антисыворотки к IgD (если проводится иммуновытеснение в сыворотке или моче)
 REF 821500 V-CE Anti-IgE kappa anti-sera — антисыворотки к каппа-цепи IgE (если проводится иммуновытеснение в сыворотке или моче)

ОТБОР И ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦОВ

Оптимальный образец для анализа мочи — свежесобранная моча (суточная). Образцы можно хранить при 2-6°C на протяжении срока до 7 суток. Для более длительного хранения рекомендуется температура -70°C, при которой образцы можно хранить на протяжении срока до 1 месяца. НЕ ХРАНИТЕ образцы при -20°C.

ПОЗТАЛНАЯ ПРОЦЕДУРА

1. Снимите верхнюю и нижнюю крышки с колонки для обессоливания и дождитесь стекания из колонки излишка жидкости. Поддерживайте колонку над соответствующей емкостью для вытекающей жидкости, чтобы уловить поток буфера.
 Примечание: если в колонке останется лишняя жидкость, поток через колонку будет слишком медленным.
2. Заполните в колонку 10 мл Urine Protein Buffer (буфера для определения белка в моче) и дождитесь, пока жидкость не распределится равномерно.
 Примечание: такой объем соответствует 3 полным циклам заполнения колонки.

3. Дождитесь, пока Urine Protein Buffer (буфер для определения белков мочи) полностью не затечет в гель под действием силы тяжести. Не создавайте положительное давление.
4. После прекращения протекания буфера через колонку добавьте образец мочи в колонку до максимального объема 0,5 мл. Дождитесь, пока образец полностью не затечет в гель.
5. Добавьте 0,2 мл Urine Protein Buffer (буфера для определения белков мочи) в верхнюю часть колонки. Дождитесь, пока буфер полностью не затечет в гель.
6. Поместите под колонкой сборную трубку соответствующего размера. Элюируйте образец мочи 0,7 мл Urine Protein Buffer (буфера для определения белков мочи). Конечный объем должен составлять 0,7 мл.
7. Утилизируйте использованную колонку для обезооливания.

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Большинство моноклональных белков перемещается в катодный гамма-участок белковой дорожки, но поскольку эти белки аномальны, они могут двигаться при электрофорезе белков в любой участок глобулинов.

Когда аномальный белок содержится в низких концентрациях, полоса аномального белка может выглядеть как полоса внутри нормального поликлонального иммуноглобулина. Также можно увидеть полосу на фоне поликлонального белка, где также присутствует большой поликлональный иммуноглобулин.

Тип протеинурии	Выявленные полосы	Присутствующие белки
Нормальная моча	Небольшой альбумин	Альбумин
Клубочковая	Альбумин, альфа-1, бета, гамма	Альбумин, альфа-1, антитрипсин, трансферрин, гамма-глобулины
Канальцевая	альфа-1, альфа-2, бета	Белок, связывающий ретинол, бета2-микроглобулин, альфа-2-микроглобулин.
Гиперпротеинурия	гамма или различные	иммуноглобулины, свободные легкие цепи

НЕДОСТАТКИ

1. Реакция с антителами к легким цепям каппа или лямбда, но отсутствует реакция с антителами к тяжелым цепям IgG, IgA или IgM. Образцы, в которых это наблюдается, могут указывать либо на моноклональную гаммапатию со свободными цепями, либо содержать моноклональный белок IgD или IgE. В такой ситуации анализ на IgD следует повторить, заменив антителами к IgD и IgE на другие антителы к другим тяжелым цепям. Отсутствие реакции с антителами к IgD или IgE будет указывать на болезнь свободных легких цепей.

2. Полоса в гамма-участке, не реагирующая с антителами во время электрофореза с иммунофиксацией. У больных с острой воспалительной реакцией может выявляться С-реактивный белок (СРБ).^{1,2} Повышенные уровни альфа-1-антитрипсина и гаптоглобина — дополнительные свидетельства в пользу СРБ.

3. Отсутствие реакции с антителами к цепям каппа и лямбда. В отдельных случаях образец будет реагировать с антителами к тяжелым цепям, но не к легким цепям. В такой ситуации следует исключить:

- а) болезнь тяжелых цепей;
- б) очень высокие концентрации легких цепей, что ведет к избытку антигена;
- в) низкие концентрации легких цепей;
- г) атипичные молекулы легких цепей, не реагирующие с антителами;
- д) легкие цепи со «скрытыми» детерминантами легких цепей (как иногда наблюдается в отношении IgA и IgD).

Чтобы получить однозначные результаты, в ходе анализа могут потребоваться:

- а) большая или меньшая степень разведения образца для оптимизации соотношения антитело/антиген;
- б) обработка образца β-2-меркаптоэтанолом для «проявления» легких цепей.

ХАРАКТЕРИСТИКИ МЕТОДА

Проведены серии анализов и сравнение с коммерческим тест-комплексом, при этом оба комплекта показали одинаковые результаты.

Чувствительность:

Методом анализа мочи КЗ-V8 можно выявлять белки в моче, эквивалентные одной полосе при уровне ___ мг/л.

ЛИТЕРАТУРА

1. Jeppsson, J.O., Laurell, C.B. and Franzen, B., 'Agarose Gel Electrophoresis', Clin. Chem., 1979; 25 (4): 629-638.
2. Killingsworth, L.M., Cooney, S.K. and Tyllia, M.M., 'Protein Analysis', Diagnostic Medicine, 1980; Jan/Feb: 3-15.



Тест-система «Белки сыворотки (бета-сплит)-24» для прибора SAS-1 (SAS-1 SP-24 SB kit)

НАЗНАЧЕНИЕ

Тест-система предназначена для разделения и количественного определения белков сыворотки методом электрофореза в агарозном геле.

Сыворотка содержит более 100 отдельных белков, каждый со специальным набором функций, и концентрация которых подлежит специфическим вариациям при различных патологических состояниях.¹

Со времени изобретения Тиселиусом (Tiselius)² электрофореза с подвижной границей и последующего использования зонального электрофореза белки сыворотки были разделены на фракции на основе их заряда при определенном pH. Набор SAS-1 Белки сыворотки предназначен для разделения белков сыворотки на 5 основных классов (альбумин, альфа-1 глобулин, альфа-2 глобулин, бета-глобулин, и гамма-глобулин) в соответствии с зарядом в агарозном геле. Затем белки окрашивают с целью визуализации и количественной интерпретации. Каждая из классических зон электрофореза, за исключением альбумина, обычно содержит 2 или более компонентов. Данные о пропорциональном отношении этих фракций зарекомендовали себя как хорошее вспомогательное средство при диагностике и прогнозировании определенных патологических состояний.³⁻⁵

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Все реагенты предназначены только для диагностического использования в условиях *in vitro*. Не глотать и не пипетировать ртом ни один компонент набора. Надевать перчатки при работе со всеми компонентами набора. См. паспорт безопасности химического вещества, положения о рисках и обеспечении безопасности, а также информацию об утилизации.

СОСТАВ

1. Гели белки сыворотки бета сплит SAS-1

Содержит агарозу в Трис/барбитал буфере с тиомерсалом и азидом натрия в качестве консерванта. Гель упакован готовым к употреблению.

2. Кислотный синий краситель, концентрат

Содержит концентрированный кислотный синий краситель. Довести содержимое бутылки до 700 мл с использованием очищенной воды. Перемешать, оставить на ночь, отфильтровать перед использованием. Хранить в бутылки с плотно закрывающейся крышкой.

3. Обесцвечивающий раствор, концентрат

Содержит концентрированный обесцвечивающий раствор. Довести содержимое бутылки до 2-х литров с использованием очищенной воды. Хранить в бутылки с плотно закрывающейся крышкой.

4. Другие компоненты набора

Каждый набор содержит инструкцию по применению и достаточное количество промокательной бумаги C для выполнения 10 гелей.

УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И СРОК ГОДНОСТИ

1. SAS-I Гель SB для белков сыворотки.

Гель следует хранить при температуре 15-30°C, в этом случае гели сохраняют стабильность до окончания срока годности, указанного на упаковке. НЕ ОХЛАЖДАТЬ И НЕ



Тел. +44 (0)191 482 8440
Факс +44 (0)191 482 8442
Эл. почта info@helena-biosciences.com
www.helena-biosciences.com

Helena Biosciences Europe Queensway South,
Team Valley Trading Estate, Gateshead,
Tyne and Wear, NE11 0SD, United Kingdom

ЗАМОРАЖИВАТЬ. Испорченный гель можно определить по следующим признакам: 1) кристаллический внешний вид, который указывает на то, что гель был заморожен; 2) ломкость и отслаивание, свидетельствующие о высыхании геля; 3) видимое загрязнение агарозы бактериальными или грибковыми источниками.

2. Кислотный синий краситель

Концентрат красителя следует хранить при температуре 15-30°C, в этом случае он сохраняет стабильность до окончания срока годности, указанного на ярлыке. Раствор красителя стабилен в течение 6 месяцев при температуре 15-30°C. Рекомендуется незамедлительно утилизировать использованный краситель в целях предотвращения снижения окрашивающей способности. Низкая эффективность окрашивания может указывать на порчу раствора красителя.

3. Обесцвечивающий раствор

Концентрат обесцвечивающего раствора следует хранить при температуре 15-30°C, в этом случае он сохраняет стабильность до окончания срока годности, указанного на ярлыке. Раствор стабилен в течение 6 месяцев при температуре 15-30°C.

НЕОБХОДИМЫЕ КОМПОНЕНТЫ, НЕ ВКЛЮЧЕННЫЕ В НАБОР

Номер по каталогу 210200 Ножи аппликатора для образцов (1 x 10)

Номер по каталогу 210300 Ножи аппликатора для образцов (5 x 10)

Номер по каталогу 210100 Одноразовые колпачки для образцов (100)

Номер по каталогу 3100 REP Prep

Сушильная печь с принудительным движением воздуха, нагрев до 60-70°C

Фиксирующий раствор: смешать 500 мл метанола и 500 мл очищенной воды. Добавить 100 мл ледяной уксусной кислоты. Хранить в бутылки с плотно закрывающейся крышкой.

Очищенная вода

ОТБОР И ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦОВ

Предпочтение следует отдать свежесобранному образцам сыворотки. Образцы сыворотки допускается хранить при температуре 15-30°C до 4-х дней, при 2-6°C до 2-х недель или 6 месяцев при -20°C.⁶ Также допускается использовать мочу и спинномозговую жидкость, выполнив соответствующие действия по изменению концентрации (50-100X).

Использование плазмы приводит к появлению фибриногеновой полосы между бета- и гамма-фракциями.

Интерферирующие факторы: 1) Гемолиз может стать причиной ложно повышенных уровней фракций альфа 2 и бета. 2) Неточные результаты могут быть получены по образцам, оставленным на открытом воздухе, по причине испарения.

ПОШАГОВАЯ ПРОЦЕДУРА

1. Пипетировать 35µл образца в соответствующую лунку поддона для образцов SAS-1 или в одноразовый колпачок для образцов.

i) **Пользователи SAS-1 и SAS-1 Plus:** Осторожно поместить поддон для образцов в ящик аппликатора. Установить поддон в соответствующее положение с применением нажатия.

ii) **Пользователи SAS-3:** Осторожно поместить поддон для образцов при помощи позиционирующих штырьков для поддона с образцами. Убедитесь, что поддон надежно установлен.

2. Извлечь гель из упаковки, удалить верхний слой и:



Тел. +44 (0)191 482 8440

Факс +44 (0)191 482 8442

Эл. почта [info@helena-](mailto:info@helena-biosciences.com)

[biosciences.com](mailto:info@helena-biosciences.com)

www.helena-biosciences.com

Helena Biosciences Europe Queensway South,
Team Valley Trading Estate, Gateshead,
Tyne and Wear, NE11 0SD, United Kingdom

- i) **Пользователи SAS-1:** поместить гель в SAS-1 стороной с агарозой вверх, соединив положительные и отрицательные стороны с соответствующими стойками электродов.
- ii) **Пользователи SAS-1 Plus:** нанести 400μл REP Prep на теплоотвод. Поместить гель на теплоотвод стороной с агарозой вверх, совместив положительные и отрицательные стороны с соответствующими стойками электродов, при этом следует исключить попадание пузырьков воздуха под гель.
- iii) **Пользователи SAS-3:** поместить направляющую на штырьки и нанести 400μл REP Prep на центр камеры. Поместить гель в камеру стороной с агарозой вверх, с использованием направляющей, совместив положительные и отрицательные стороны с соответствующими стойками электродов, при этом следует исключить попадание пузырьков воздуха под гель.
3. Промокнуть поверхность геля промокательной бумагой C, утилизировать бумагу.
4. i) **Пользователи SAS-1:** подсоединить электроды к верхней части стоек электродов таким образом, чтобы они контактировали с блоками геля.
- ii) **Пользователи SAS-1 Plus:** (см. выше). Поместить крышку на гель и электроды и плотно прижать на 5 секунд для обеспечения контакта.
- iii) **Пользователи SAS-3:** подсоединить электроды к стойкам таким образом, чтобы они контактировали с блоками геля.
5. Установить в прибор 2 ножа аппликатора в сборе в соответствующую позицию (**Пользователи SAS-3:** слот A и 10).
6. Выполнить электрофорез белков сыворотки:
- i) **Пользователи SAS-1:** 80 вольт, 22 минуты, 1 нанесение
- ii) **Пользователи SAS-1 Plus:** Электрофорез : 100 Вольт, 22 минут, 20°C, 1 нанесение.
- iii) **Пользователи SAS-3:**

Шаг	Время (мин:сек)	Температура (°C)	Напряжение	Другое
Загрузка образца	00:30	21		Скорость 1
Нанесение пробы	00:30	21		Скорость 1*
Электрофорез	23:00	20	100	
Сушка	08:00	54		

*Использование помещения 2

ПРИМЕЧАНИЕ: Перед сушкой следует извлечь блоки геля.

7. По завершении электрофореза:

- i) **Пользователи SAS-1 Plus:** снять крышку.
- ii) **Пользователи SAS-1 и SAS-3:** снять электроды и удалить оба блока геля с использованием средства для удаления блоков геля.
8. Установить гель на держатель камеры для окрашивания.
9. Выбрать программу теста Serum Protein (Белки сыворотки) для устройства для окрашивания и, следуя указаниям прибора, фиксировать, окрашивать, обесцвечивать и сушить гель.



Тел. +44 (0)191 482 8440
Факс +44 (0)191 482 8442
Эл. почта info@helena-biosciences.com
www.helena-biosciences.com

Helena Biosciences Europe Queensway South,
Team Valley Trading Estate, Gateshead,
Tyne and Wear, NE11 0SD, United Kingdom

а) SAS-2 (Прибор для автоматического окрашивания)

Шаг	Раствор	Время (мин:сек)	Порт	Температура (°C)
Окрашивание	Кислотный синий краситель	10:00	6	
Промывка	Очищенная вода	01:00	1	
Сушка	---	15:00		65
Обесцвечивание	Обесцвечивающий раствор	03:00	2	
Обесцвечивание	Обесцвечивающий раствор	03:00	2	
Промывка	Очищенная вода	01:00	1	
Сушка	---	10:00		65

б) SAS-4 (Прибор для автоматического окрашивания)

Шаг	Время (мин:сек)	Температура (°C)	Другое
Окрашивание	04:00		Рециркуляция ВКЛ
Обесцвечивание	02:00		Рециркуляция ВКЛ
Обесцвечивание	02:00		Рециркуляция ВКЛ
Сушка	12:00	63	

в) Вручную

Следовать последовательности действий, указанной для прибора для автоматического окрашивания SAS-2, используя кювету для шагов фиксации, окрашивания, обесцвечивания и промывки, и сушильную печь с рециркуляцией воздуха и нагревом до 60-70°C для этапов сушки.

10. По окончании цикла окрашивания извлечь гель из камеры для окрашивания. Теперь гель готов для исследования.

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Контроли Kentrol Serum Controls (номера по каталогу 7024 и 7025) могут быть использованы для верификации всех этапов процедуры и должны быть использованы при выполнении каждого цикла по планшету. Соответствующие справочные значения см. прилагаемый упаковочный вкладыш.

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Рекомендуется выполнять оценку гелей относительно нормальных значений, полученных для данного метода в каждой отдельной лаборатории.

Подробное рассмотрение оценки белков сыворотки см. Рицманн С.Е. (Ritzmann S.E.), 1982.⁵

Исследования показывают, что значения одинаковы как для мужчин, так и для небеременных женщин. Некоторые различия наблюдаются у беременных женщин и у женщин, принимающих оральные контрацептивы.

На нормальные значения оказывает некоторое влияние возраст. В пуповинной крови отмечается пониженное значение общего белка, альбумина, альфа 2 и бета фракций; немного повышенный уровень альфа 1 и нормальный или повышенный уровень гамма фракции (в основном материнского происхождения). Количество гамма-глобулинов быстро



Тел. +44 (0)191 482 8440
Факс +44 (0)191 482 8442
Эл. почта info@helena-biosciences.com
www.helena-biosciences.com

Helena Biosciences Europe Queensway South,
Team Valley Trading Estate, Gateshead,
Tyne and Wear, NE11 0SD, United Kingdom

снижается до 3-х месячного возраста, и к этому же возрасту другие фракции достигают уровня взрослого человека. Уровни гамма-глобулинов соответствуют показателям взрослого человека не ранее 10-16 летнего возраста. После 40 лет снижается уровень альбумина и повышается уровень бета глобулина.

1. Качественная оценка:

Гели можно оценить визуально на наличие или отсутствие полос, представляющих интерес.

2. Количественная оценка:

Сканировать гель, стороной с гелем вниз, при 595 нм.

В любом случае повышение или снижение уровня отдельных компонентов сыворотки или обнаружение необычных компонентов сыворотки требуют дальнейшего исследования. Выполненный гель для белков сыворотки SAS-1 стабилен в течение неопределенного периода времени.

ОГРАНИЧЕНИЯ

Так как все процедуры электрофореза не являются линейными, важно в точности следовать данной инструкции по применению с целью достижения оптимального разрешения и воспроизводимых результатов. При несоблюдении настоящей инструкции по применению полученные результаты могут быть ошибочными.

СПРАВОЧНЫЕ ЗНАЧЕНИЯ

Следующие нормальные значения были получены с использованием 20 нормальных проб доноров мужского и женского пола в возрастных рамках 20-59 лет (данные представлены только в справочных целях):

Фракция белков	Среднее (%)	±2 станд. откл. диапазон
Альбумин	59,3	53,1-65,5
Альфа 1	3,5	2,3-4,6
Альфа 2	8,7	6,5-10,9
Бета 1	8,6	6,5-10,7
Бета 2	10,7	3,7-6,0
Гамма	15,0	11,6-18,6

РАБОЧИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Воспроизводимость

	Гель (n=24)		Между гелями (n=96)	
	Средняя (%)	Козф. вар. (%)	Средняя (%)	Козф. вар. (%)
Альбумин	59,2	3,7	59,7	3,9
Альфа 1	3,9	9,7	4,0	12,7
Альфа 2	9,9	6,0	9,1	6,1
Бета 1	8,3	4,4	9,0	6,1
Бета 2	5,2	7,8	4,8	9,0
Гамма	13,6	6,8	13,2	8,2

Чувствительность

Данный метод чувствителен к 0,25 г/л на полосу, что было определено как самая малая концентрация белка, которая была явно видна как отдельная полоса на выполненном геле.



Тел. +44 (0)191 482 8440
Факс +44 (0)191 482 8442
Эл. почта info@helena-biosciences.com
www.helena-biosciences.com

Helena Biosciences Europe Queensway South,
Team Valley Trading Estate, Gateshead,
Tyne and Wear, NE11 0SD, United Kingdom

Линейность

Линейность метода – это функция спецификации денситометра, а также эффективность геля. Рекомендуется, чтобы каждый пользователь определил линейность метода, основываясь на используемом в лаборатории денситометре.

БИБЛИОГРАФИЯ

1. Alper, C.A. 'Plasma Protein Measurements as a Diagnostic Aid', *N. Eng. J. Med.*, 1974; 291 : 287-290.
2. Tiselius, A. 'A New Apparatus for Electrophoretic Analysis of Colloidal Mixtures', *Trans. Faraday Soc.*, 1937; 33 : 524.
3. Ritzmann, S.E. and Daniels, J.C. 'Diagnostic Proteinology: Separation and Characterization of Proteins, Qualitative and Quantitative Assays' in *Laboratory Medicine*, Harper and Row, Inc., Hagerstown, 1979.
4. Tietz, N.W. (Ed.), *Textbook of Clinical Chemistry*, W.B. Saunders Co., Philadelphia, pages 579-582, 1986.
5. Ritzmann, S.E. (Ed.), *Protein Abnormalities Volume 1 : Physiology of Immunoglobulins -Diagnostic and Clinical Aspects*, Allen R. Liss, Inc., New York, 1982.
6. Tietz, N.W. (Ed.), *Textbook*



Тел. +44 (0)191 482 8440
 Факс +44 (0)191 482 8442
 Эл. почта info@helena-biosciences.com
www.helena-biosciences.com

Helena Biosciences Europe Queensway South,
 Team Valley Trading Estate, Gateshead,
 Tyne and Wear, NE11 0SD, United Kingdom

Тест-система «Белки сыворотки 6 фракций, высокое разрешение» для прибора V8 - V8 Serum Protein 6-band Zoom kit.

Инструкция по применению

REF 800200

Helena Biosciences Europe
Queensway South
Team Valley Trading Estate
Gateshead
Tyne and Wear
NE11 0SD
Тел. +44 (0)191 482 8440
Факс +44 (0)191 482 8442
Эл. почта info@helena-biosciences.com
www.helena-biosciences.com



HL-2-1838P 2008/12 (1)

Тест-система «SPE Белки в моче (колоночный метод)» для прибора V8 - V8 Urine Analysis Column SPE kit.

Инструкция по применению

REF 800405

Helena Biosciences Europe
Queensway South
Team Valley Trading Estate
Gateshead
Tyne and Wear
NE11 0SD
Тел. +44 (0)191 482 8440
Факс +44 (0)191 482 8442
Эл. почта info@helena-biosciences.com
www.helena-biosciences.com



HL-2-1877P 2008/12 (1)

195

НАЗНАЧЕНИЕ

V-CE Serum Protein 6-band kit (шестиполосный комплект V-K3 для определения сывороточных белков) предназначен для разделения и количественного анализа сывороточных белков с помощью капиллярного электрофореза (КЭ).

В сыворотке содержится больше 100 различных белков, обладающих определенными свойствами и изменяющимися определенным образом по концентрации при различных патологических состояниях.¹ С момента внедрения Tiseius² электрофореза в свободном потоке и последующего применения зонного электрофореза сывороточные белки были разделены с уровнем их заряда при соответствующем значении pH. С помощью комплекта V-CE Serum Protein 6-band kit (шестиполосный комплект V-K3 для определения сывороточных белков) производится разделение сывороточных на 6 главных классов (альбумин, альфа-1-глобулин, альфа-2-глобулин, бета-1-глобулин, бета-2-глобулин и гамма-глобулин). В каждом проведенном электрофорезе, за исключением альбумина, содержится, как минимум, 2 компонента. Относительное содержание этих фракций оказалось полезным показателем в диагностике и прогнозе некоторых патологических состояний.³⁻⁵

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Реактивы, содержащиеся в этом комплекте, предназначены только для диагностики *in vitro*. Не глотайте и не капайте пипеткой в рот какие-либо компоненты комплекта. При манипуляциях со всеми компонентами комплекта используйте перчатки. Данные по безопасности продукта, формулировки, касающиеся безопасности, и сведения об утилизации приведены в спецификации продукта в отношении безопасности.

СОСТАВ

1. Serum Protein Buffer. REF HL-3-2119SA (1 x 500 tests) - буфер для анализа сывороточных белков. (1 x 500 анализов). Каждый флакон содержит Serum Protein Buffer (буфер для анализа сывороточных белков) в количестве, достаточном для 500 анализов. Serum Protein Buffer (буфер для анализа сывороточных белков) готов к применению, и его следует помещать в соответствующее место на инструменте Helena V8 согласно инструкции в руководстве пользователя.
2. Фильтр. REF HL-3-2130SA (x1) Фильтр следует устанавливать на входную трубку переходника для флакона с буфером для анализа сывороточных белков инструмента Helena V8 согласно инструкции в руководстве пользователя. Фильтр предназначен для одноразового использования, и при замене буфера для сывороточных белков его тоже следует заменять.
3. стаканчики для образцов. REF HL-3-2134SA (4 x 36). Стаканчики для образцов следует устанавливать на инструменте Helena V8 согласно руководству пользователя.
4. Прочие компоненты комплекта. В каждом комплекте имеется инструкция по применению.

ХРАНИЕНИЕ И СРОК ГОДНОСТИ

1. Serum Protein Buffer - буфер для анализа сывороточных белков. Serum Protein Buffer (буфер для анализа сывороточных белков) следует хранить при 15-30°C; он стабилен до истечения срока годности, указанного на этикетке. Открытые флаконы, установленные на инструменте Helena V8, стабильны в течение 6 месяцев при 15-30°C.

НЕОБХОДИМЫЕ КОМПОНЕНТЫ, НЕ ВКЛЮЧЕННЫЕ В КОМПЛЕКТ ПОСТАВКИ

REF 830100 V-CE Storage Buffer — буфер для хранения
REF 830200 V-CE Maintenance Buffer — буфер для поддержания

НЕОБЯЗАТЕЛЬНЫЕ КОМПОНЕНТЫ

REF 800300 V-CE Immunodisplacement kit — комплект для иммуновытеснения (если проводится иммуновытеснение в сыворотке или моче)
REF 800401 V-CE Urine analysis centrifugation kit 6-band — шестиполосный комплект для центрифугирования при анализе мочи (если проводится преаналитическое концентрирование и обессоливание с использованием мембранных концентраторов при анализе мочи)
REF 800406 V-CE Urine analysis column kit 6-band — шестиполосный комплект для колонки при анализе мочи (если проводится преаналитическое обессоливание при анализе мочи с использованием колоночной хроматографии)
REF 820500 V-CE Anti-Free kappa anti-sera — антисыворотки к свободным каппа-цепям (если проводится иммуновытеснение в сыворотке или моче)
REF 820600 V-CE Anti-Free lambda anti-sera — антисыворотки к свободным ламбда-цепям (если проводится иммуновытеснение в сыворотке или моче)
REF 821400 V-CE Anti-IgD anti-sera — антисыворотки к IgD (если проводится иммуновытеснение в сыворотке или моче)

ОТБОР И ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦОВ

Оптимальный образец — свежая сыворотка. Образцы можно хранить при 15-30°C в течение срока до 4 суток, при 2-6°C — до 14 суток и при -20°C — до 6 месяцев. Использование плазмы приведет к образованию полосы фибриногена между бета- и гамма-фракциями.

ПОБОЧНЫЕ ФАКТОРЫ

1. Гемоллиз может вызывать ложное повышение альфа-2- и бета-фракций.
2. Неточные результаты возможны из-за испарения, когда образцы оставляют в незакрытом виде.

ПОСТАПНАЯ ПРОЦЕДУРА

1. Убедитесь, что имеется выдвижной ящик для емкостей для отходов, и он пуст.
2. До перехода к V8 убедитесь, что имеются буфер для хранения, буфер для поддержания и одноразовые стаканчики, и они находятся в соответствующих положениях. Установка всех расходных компонентов описана в руководстве пользователя.
3. Переключитесь на инструмент Helena V8, как описано в руководстве пользователя.
4. При заполнении V8 запустите Platinum 4V и нажмите новый сеанс КЗ. В Platinum 4V выберите 'CE SYSTEM' (СИСТЕМА КЗ) из выпадающего меню, нажмите на 'DEFAULT METHOD' (МЕТОД ПО УМОЛЧАНИЮ) и выберите V8 Serum Protein 6 band (шестиполосный V8 сывороточных белков) или V8 Urine Protein 6 band (шестиполосный V8 белков мочи) в зависимости от того, какой анализ требуется провести.
5. Выбор определенных анализов описан в руководстве пользователя.
6. Вставьте флакон с V-CE Serum Protein 6-band buffer (буфером для шестиполосного анализа сывороточных белков V-K3) в отделение для флаконов с жидкостями на инструменте Helena V8 и убедитесь, что он находится в правильном положении. Чтобы правильно установить флакон с V-CE Serum Protein 6-band buffer (буфером для шестиполосного анализа сывороточных белков V-K3) прежде чем устанавливать его на инструменте Helena V8, убедитесь, что на входную трубку переходника для флакона с V-CE Serum Protein 6-band buffer (буфером для шестиполосного анализа сывороточных белков V-K3) установлен новый фильтр (см. руководство пользователя).
7. После установки флакона с V-CE Serum Protein 6-band buffer (буфером для шестиполосного анализа сывороточных белков V-K3) автоматически откроется окно 'DEFINE BUFFER' (ОПРЕДЕЛЕНИЕ БУФЕРА) в Platinum 4V. Отсканируйте или введите штрих-код в поле позиции V-CE Serum Protein 6-band buffer (буфера для шестиполосного анализа сывороточных белков V-K3), совпадающий с позицией флакона.
8. Когда V8 будет готов для обработки образцов, на инструменте начнет мигать красный индикатор.
9. Поместите пробирки с первичными образцами в подставку для образцов и убедитесь, что штрих-код четко виден через окошко в подставке (см. руководство пользователя).
10. Установите подставки для образцов на левую поперечную транспортную область V8 и закройте крышку, как описано в руководстве пользователя.
11. V8 автоматически начнет анализ всех загруженных образцов, и результаты будут передаваться в Platinum 4V.
12. После анализа и при необходимости запустите режим прекращения работы V8, выключив инструмент, как описано в руководстве пользователя.

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Рекомендуется проводить оценку дорожки КЗ против нормальных значений, полученных данным методом в каждой лаборатории.

Полный обзор анализа сывороточных белков приведен в работе Ritzmann, S.E, 1982.⁵ Исследования показали, что значения у мужчин и небеременных женщин одинаковы. У беременных на поздних сроках и женщин, принимающих противозачаточные средства, имеются некоторые отличия. Некоторое влияние на нормальные значения оказывает возраст. В половинной крови снижено содержание общего белка, альбумина, альфа-2- и бета-фракций, несколько повышено содержание альфа-1-фракции, а содержание гамма-фракции нормально или повышено (в основном материнского происхождения). Гамма-глобулины быстро снижаются к 3-месячному возрасту, в то время как другие фракции к этому времени достигают величин, характерных для взрослых. Уровни гамма-глобулинов, характерные для взрослых, достигаются только к 10-16-летнему возрасту. Содержание альбумина и бета-глобулина повышается после 40 лет.

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Для верификации всех стадий процедуры анализа сывороточных белков можно использовать контрольные сыворотки Helena Biosciences Kentrol Serum Controls (кат. номера 7024 и 7025). Соответствующие показатели приведены во вкладыше к упаковке.

4/10

НЕДОСТАТКИ

Использование старых или замороженных образцов может приводить к снижению бета-фракции. Гемолиз может вызывать ложное повышение альфа-2- и бета-фракций.

НОРМАЛЬНЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ

По 20 образцам доноров мужчин и женщин в возрасте 20-80 лет определены следующие нормальные показатели (представлены только для справки):

Белковая фракция	Среднее значение (%)	Диапазон $\pm 2SD$
Альбумин	61	55-65
Альфа-1	4	3-5
Альфа-2	9	7-11
Бета-1	7	5-9
Бета-2	4	3-5
Гамма	15	13-17

ХАРАКТЕРИСТИКИ МЕТОДА

В компании Helena Biosciences определены следующие характеристики, которые можно использовать как справочные. В каждой лаборатории необходимо установить собственные характеристики метода.

Точность:

	Воспроизводимость в пределах одного анализа (n = 30)		Воспроизводимость между анализами (n = 300)		Воспроизводимость между разными партиями (n = 3) (N = 30)	
	Среднее значение (%)	Коэффициент вариации (%)	Среднее значение (%)	Коэффициент вариации (%)	Среднее значение (%)	Коэффициент вариации (%)
Альбумин	61	0,9	61	0,9	61	0,9
Альфа-1	4	1,8	4	1,8	4	1,8
Альфа-2	9	1,9	9	1,9	9	1,9
Бета-1	7	1,9	7	1,9	7	1,9
Бета-2	4	1,9	4	1,9	4	1,8
Гамма	15	1,3	15	1,3	15	1,3

Чувствительность:

Метод CE V8 Serum Protein (анализа сывороточных белков КЭ V8) способен выявлять сывороточные белки при концентрации ____ мкг/мл.

Достоверность:

Сравнение с коммерческим полуавтоматическим методом определения сывороточных белков с помощью гель-электрофореза дал следующий результат:

$$y = 0,9999 + 0,313, r^2 = 0,888$$

ЛИТЕРАТУРА

1. Alper, C.A. 'Plasma Protein Measurements as a Diagnostic Aid', N. Eng. J. Med., 1974; 291 : 287-290.
2. Tiselius, A. 'A New Apparatus for Electrophoretic Analysis of Colloidal Mixtures', Trans. Faraday Soc., 1937; 33 : 524.
3. Ritzmann, S.E. and Daniels, J.C. 'Diagnostic Proteinology: Separation and Characterization of Proteins, Qualitative and Quantitative Assays' in Laboratory Medicine, Harper and Row, Inc., Hagerstown, 1979.
4. Tietz, N.W. (Ed.), Textbook of Clinical Chemistry, W.B. Saunders Co., Philadelphia, pages 579-582, 1986.
5. Ritzmann, S.E. (Ed.), Protein Abnormalities Volume 1 : Physiology of Immunoglobulins - Diagnostic and Clinical Aspects, Allen R. Liss, Inc., New York, 1982.

Тест-система «Белки сыворотки-24» для прибора SAS-1 (SAS-1 SP-24 Kit)

НАЗНАЧЕНИЕ

Тест-система предназначена для разделения и количественного определения белков сыворотки методом электрофореза в агарозном геле.

Сыворотка содержит более 100 отдельных белков, каждый со специальным набором функций, и концентрация которых подлежит специфическим вариациям при различных патологических состояниях.¹

Со времени изобретения Тиселиусом (Tiselius)² электрофореза с подвижной границей и последующего использования зонального электрофореза белки сыворотки были разделены на фракции на основе их заряда при определенном pH. Набор SAS-1 Белки сыворотки предназначен для разделения белков сыворотки на 5 основных классов (альбумин, альфа-1 глобулин, альфа-2 глобулин, бета-глобулин, и гамма-глобулин) в соответствии с зарядом в агарозном геле. Затем белки окрашивают с целью визуализации и количественной интерпретации. Каждая из классических зон электрофореза, за исключением альбумина, обычно содержит 2 или более компонентов. Данные о пропорциональном отношении этих фракций зарекомендовали себя как хорошее вспомогательное средство при диагностике и прогнозировании определенных патологических состояний.³⁻⁵

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Все реагенты предназначены только для диагностического использования в условиях *in-vitro*. Не глотать и не пипетировать ртом ни один компонент набора. Надевать перчатки при работе со всеми компонентами набора. См. паспорт безопасности химического вещества, положения о рисках и обеспечении безопасности, а также информацию об утилизации.

СОСТАВ

1. SAS-1 Гель для белков сыворотки

Содержит агарозу в Трис/барбитал буфере с тиомерсалом и азидом натрия в качестве консерванта. Гель упакован готовым к употреблению.

2. Кислотный синий краситель, концентрат

Содержит концентрированный кислотный синий краситель. Довести содержимое бутылки до 700 мл с использованием очищенной воды. Перемешать, оставить на ночь, отфильтровать перед использованием. Хранить в бутылки с плотно закрывающейся крышкой.

3. Обесцвечивающий раствор, концентрат

Содержит концентрированный обесцвечивающий раствор. Довести содержимое бутылки до 2-х литров с использованием очищенной воды. Хранить в бутылки с плотно закрывающейся крышкой.

4. Другие компоненты набора

Каждый набор содержит инструкцию по применению и достаточное количество промокающей бумаги C для выполнения 10 гелей.

УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И СРОК ГОДНОСТИ

1. SAS-I Гель для белков сыворотки.



Тел. +44 (0)191 482 8440
Факс +44 (0)191 482 8442
Эл. почта info@helena-biosciences.com

www.helena-biosciences.com

Helena Biosciences Europe Queensway South,
Team Valley Trading Estate, Gateshead,
Tyne and Wear, NE11 0SD, United Kingdom

Гель следует хранить при температуре 15-30°C, в этом случае гели сохраняют стабильность до окончания срока годности, указанного на упаковке. **НЕ ОХЛАЖДАТЬ И НЕ ЗАМОРАЖИВАТЬ.** Испорченный гель можно определить по следующим признакам: 1) кристаллический внешний вид, который указывает на то, что гель был заморожен; 2) ломкость и отслаивание, свидетельствующие о высыхании геля; 3) видимое загрязнение агарозы бактериальными или грибковыми источниками.

2. Кислотный синий краситель

Концентрат красителя следует хранить при температуре 15-30°C, в этом случае он сохраняет стабильность до окончания срока годности, указанного на ярлыке. Раствор красителя стабилен в течение 6 месяцев при температуре 15-30°C. Рекомендуется незамедлительно утилизировать использованный краситель в целях предотвращения снижения окрашивающей способности. Низкая эффективность окрашивания может указывать на порчу раствора красителя.

3. Обесцвечивающий раствор

Концентрат обесцвечивающего раствора следует хранить при температуре 15-30°C, в этом случае он сохраняет стабильность до окончания срока годности, указанного на ярлыке. Раствор стабилен в течение 6 месяцев при температуре 15-30°C.

НЕОБХОДИМЫЕ КОМПОНЕНТЫ, НЕ ВКЛЮЧЕННЫЕ В НАБОР

Номер по каталогу 210200 Ножи аппликатора для образцов (1 x 10)

Номер по каталогу 210300 Ножи аппликатора для образцов (5 x 10)

Номер по каталогу 210100 Одноразовые колпачки для образцов (100)

Номер по каталогу 3100 REP Prep

Сушильная печь с принудительным движением воздуха, нагрев до 60-70°C

Фиксирующий раствор: смешать 500 мл метанола и 500 мл очищенной воды. Добавить 100 мл ледяной уксусной кислоты. Хранить в бутылки с плотно закрывающейся крышкой.

Очищенная вода

ОТБОР И ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦОВ

Предпочтение следует отдать свежесобраным образцам сыворотки. Образцы сыворотки допускается хранить при температуре 15-30°C до 4-х дней, при 2-6°C до 2-х недель или 6 месяцев при -20°C.⁶ Также допускается использовать мочу и спинномозговую жидкость, выполнив соответствующие действия по изменению концентрации (50-100X).

Использование плазмы приводит к появлению фибриногеновой полосы между бета- и гамма-фракциями.

Интерферирующие факторы: 1) Гемолиз может стать причиной ложно повышенных уровней фракций альфа 2 и бета. 2) Неточные результаты могут быть получены по образцам, оставленным на открытом воздухе, по причине испарения.

ПОШАГОВАЯ ПРОЦЕДУРА

1. Пипетировать 35µл образца в соответствующую лунку поддона для образцов SAS-1 или в одноразовый колпачок для образцов.

i) **Пользователи SAS-1 и SAS-1 Plus:** Осторожно поместить поддон для образцов в ящик аппликатора. Установить поддон в соответствующее положение с применением нажатия.



Тел. +44 (0)191 482 8440
Факс +44 (0)191 482 8442
Эл. почта info@helenabiosciences.com
www.helena-biosciences.com

Helena Biosciences Europe Queensway South,
Team Valley Trading Estate, Gateshead,
Tyne and Wear, NE11 0SD, United Kingdom

ii) Пользователи SAS-3: Осторожно поместить поддон для образцов при помощи позиционирующих штырьков для поддона с образцами. Убедитесь, что поддон надежно установлен.

2. Извлечь гель из упаковки, удалить верхний слой и:

i) Пользователи SAS-1: поместить гель в SAS-1 стороной с агарозой вверх, соединив положительные и отрицательные стороны с соответствующими стойками электродов.

ii) Пользователи SAS-1 Plus: нанести 400μл REP Prep на теплоотвод. Поместить гель на теплоотвод стороной с агарозой вверх, совместив положительные и отрицательные стороны с соответствующими стойками электродов, при этом следует исключить попадание пузырьков воздуха под гель.

iii) Пользователи SAS-3: поместить направляющую на штырьки и нанести 400μл REP Prep на центр камеры. Поместить гель в камеру стороной с агарозой вверх, с использованием направляющей, совместив положительные и отрицательные стороны с соответствующими стойками электродов, при этом следует исключить попадание пузырьков воздуха под гель.

3. Промокнуть поверхность геля промокатальной бумагой C, утилизировать бумагу.

4. i) Пользователи SAS-1: подсоединить электроды к верхней части стоек электродов таким образом, чтобы они контактировали с блоками геля.

ii) Пользователи SAS-1 Plus: (см. выше). Поместить крышку на гель и электроды и плотно прижать на 5 секунд для обеспечения контакта.

iii) Пользователи SAS-3: подсоединить электроды к стойкам таким образом, чтобы они контактировали с блоками геля.

5. Установить в прибор 2 ножа аппликатора в сборе в соответствующую позицию (Пользователи SAS-3: слот A и 10).

6. Выполнить электрофорез белков сыворотки:

i) Пользователи SAS-1: 80 вольт, 20 минут, 1 нанесение

ii) Пользователи SAS-1 Plus: Электрофорез : 100 Вольт, 18 минут, 20°C, 1 нанесение.

iii) Пользователи SAS-3:

Шаг	Время (мин:сек)	Температура (°C)	Напряжение	Другое
Загрузка образца	00:30	21		Скорость 1
Нанесение пробы	00:30	21		Скорость 1*
Электрофорез	18:00	20	100	
Сушка	08:00	54		

*Использование помещения 2

ПРИМЕЧАНИЕ: Перед сушкой следует извлечь блоки геля.

7. По завершении электрофореза:

i) Пользователи SAS-1 Plus: снять крышку.

ii) Пользователи SAS-1 и SAS-3: снять электроды и удалить оба блока геля с использованием средства для удаления блоков геля.

8. Установить гель на держатель камеры для окрашивания.

CE
Тел. +44 (0)191 482 8440
Факс +44 (0)191 482 8442
Эл. почта info@helena-biosciences.com
www.helena-biosciences.com

Helena Biosciences Europe Queensway South,
Team Valley Trading Estate, Gateshead,
Tyne and Wear, NE11 0SD, United Kingdom

9. Выбрать программу теста Serum Protein (Белки сыворотки) для устройства для окрашивания и, следуя указаниям прибора, фиксировать, окрашивать, обесцвечивать и сушить гель.

а) SAS-2 (Прибор для автоматического окрашивания)

Шаг	Раствор	Время (мин:сек)	Порт	Температура (°C)
Окрашивание	Кислотный синий краситель	10:00	6	
Промывка	Очищенная вода	01:00	1	
Сушка	---	15:00		65
Обесцвечивание	Обесцвечивающий раствор	03:00	2	
Обесцвечивание	Обесцвечивающий раствор	03:00	2	
Промывка	Очищенная вода	01:00	1	
Сушка	---	10:00		65

б) SAS-4 (Прибор для автоматического окрашивания)

Шаг	Время (мин:сек)	Температура (°C)	Другое
Окрашивание	04:00		Рециркуляция ВКЛ
Обесцвечивание	02:00		Рециркуляция ВКЛ
Обесцвечивание	02:00		Рециркуляция ВКЛ
Сушка	12:00	63	

в) Вручную

Следовать последовательности действий, указанной для прибора для автоматического окрашивания SAS-2, используя кювету для шагов фиксации, окрашивания, обесцвечивания и промывки, и сушильную печь с рециркуляцией воздуха и нагревом до 60-70°C для этапов сушки.

10. По окончании цикла окрашивания извлечь гель из камеры для окрашивания. Теперь гель готов для исследования.

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Контроли Kentrol Serum Controls (номера по каталогу 7024 и 7025) могут быть использованы для верификации всех этапов процедуры и должны быть использованы при выполнении каждого цикла по планшету. Соответствующие справочные значения см. прилагаемый упаковочный вкладыш.

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Рекомендуется выполнять оценку гелей относительно нормальных значений, полученных для данного метода в каждой отдельной лаборатории.

Подробное рассмотрение оценки белков сыворотки см. Ритцманн С.Е. (Ritzmann S.E.), 1982.⁵ Исследования показывают, что значения одинаковы как для мужчин, так и для



Тел. +44 (0)191 482 8440
Факс +44 (0)191 482 8442
Эл. почта info@helena-biosciences.com
www.helena-biosciences.com

Helena Biosciences Europe Queensway South,
Team Valley Trading Estate, Gateshead,
Tyne and Wear, NE11 0SD, United Kingdom

небеременных женщин. Некоторые различия наблюдаются у беременных женщин и у женщин, принимающих оральные контрацептивы.

На нормальные значения оказывает некоторое влияние возраст. В пуповинной крови отмечается пониженное значение общего белка, альбумина, альфа 2 и бета фракций; немного повышенный уровень альфа 1 и нормальный или повышенный уровень гамма фракции (в основном материнского происхождения). Количество гамма-глобулинов быстро снижается до 3-х месячного возраста, и к этому же возрасту другие фракции достигают уровня взрослого человека. Уровни гамма-глобулинов соответствуют показателям взрослого человека не ранее 10-16 летнего возраста. После 40 лет снижается уровень альбумина и повышается уровень бета глобулина.

1. Качественная оценка:

Гели можно оценить визуально на наличие или отсутствие полос, представляющих интерес.

2. Количественная оценка:

Сканировать гель, стороной с гелем вниз, при 595 нм.

В любом случае повышение или снижение уровня отдельных компонентов сыворотки или обнаружение необычных компонентов сыворотки требуют дальнейшего исследования.

Выполненный гель для белков сыворотки SAS-1 стабилен в течение неопределенного периода времени.

ОГРАНИЧЕНИЯ

Так как все процедуры электрофореза не являются линейными, важно в точности следовать данной инструкции по применению с целью достижения оптимального разрешения и воспроизводимых результатов. При несоблюдении настоящей инструкции по применению полученные результаты могут быть ошибочными.

СПРАВОЧНЫЕ ЗНАЧЕНИЯ

Следующие нормальные значения были получены с использованием 20 нормальных проб доноров мужского и женского пола в возрастных рамках 20-59 лет (данные представлены только в справочных целях):

Фракция белков	Среднее (%)	±2 станд. откл. диапазон
Альбумин	60,4	55,8-65,0
Альфа 1	3,4	2,2-4,6
Альфа 2	10,3	8,2-12,5
Бета	10,7	7,2-14,2
Гамма	15,0	11,5-18,6



Тел. +44 (0)191 482 8440
Факс +44 (0)191 482 8442
Эл. почта info@helena-biosciences.com

www.helena-biosciences.com

Helena Biosciences Europe Queensway South,
Team Valley Trading Estate, Gateshead,
Tyne and Wear, NE11 0SD, United Kingdom

РАБОЧИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Воспроизводимость

	Гель (n=16)		Между гелями (n=95)	
	Средняя (%)	Козф. вар. (%)	Средняя (%)	Козф. вар. (%)
Альбумин	60,1	1,7	60,4	2,3
Альфа 1	4,2	7,5	4,3	7,3
Альфа 2	11,4	4,1	10,3	7,8
Бета	10,5	2,1	11,2	6,8
Гамма	13,8	3,0	13,8	5,5

Чувствительность

Данный метод чувствителен к 0,3 г/л на полосу, что было определено как самая малая концентрация белка, которая была явно видна как отдельная полоса на выполненном геле.

Линейность

Линейность метода – это функция спецификации денситометра, а также эффективность геля. Рекомендуется, чтобы каждый пользователь определил линейность метода, основываясь на используемом в лаборатории денситометре.

БИБЛИОГРАФИЯ

1. Alper, C.A. 'Plasma Protein Measurements as a Diagnostic Aid', *N. Eng. J. Med.*, 1974; 291 : 287-290.
2. Tiselius, A. 'A New Apparatus for Electrophoretic Analysis of Colloidal Mixtures', *Trans. Faraday Soc.*, 1937; 33 : 524.
3. Ritzmann, S.E. and Daniels, J.C. 'Diagnostic Proteinology: Separation and Characterization of Proteins, Qualitative and Quantitative Assays' in *Laboratory Medicine*, Harper and Row, Inc., Hagerstown, 1979.
4. Tietz, N.W. (Ed.), *Textbook of Clinical Chemistry*, W.B. Saunders Co., Philadelphia, pages 579-582, 1986.
5. Ritzmann, S.E. (Ed.), *Protein Abnormalities Volume 1 : Physiology of Immunoglobulins - Diagnostic and Clinical Aspects*, Allen R. Liss, Inc., New York, 1982.
6. Tietz, N.W. (Ed.), *Textbook of Clinical Chemistry*, (3rd Edition), W.B. Saunders Co., Philadelphia, page 524, 1995.



Тел. +44 (0)191 482 8440
Факс +44 (0)191 482 8442
Эл. почта info@helena-biosciences.com
www.helena-biosciences.com

Helena Biosciences Europe Queensway South,
Team Valley Trading Estate, Gateshead,
Tyne and Wear, NE11 0SD, United Kingdom

Рисунок 1: Схема нанесения образца

Интерпретация результатов анализа

Обработанный гель можно анализировать визуально на наличие интересующих полос или рисунка, а также можно сканировать при помощи планшетного сканера и программы Platinum. Каждый образец пациента покажет 5 полос с обработкой альфа-1-антитрипсином. Существует 2 основных полосы, обозначенные 4 и 6, и 3 меньшие: полосы 2 (анодная для 4 и 6) и полосы 7 и 8 (катодная для 4 и 6).⁶ У пациентов с фенотипами PiZZ и PiSZ будут наблюдаться слабые следы из-за низкой концентрации альфа-1-антитрипсина. Интерпретация полученных результатов должна выполняться с учетом клинической истории пациента.

Контроль качества

При отсутствии контрольного материала, следует использовать образец с известным фенотипом альфа-1-антитрипсина в качестве контроля с каждым гелем, чтобы подтвердить все этапы процедуры.

РАБОЧИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Воспроизводимость

а. Внутри геля

Один образец а1-АТ показывает одинаковый рисунок, в каждой из 7 исследуемых полос геля.

б. Между гелями

Тот же образец был протестирован на 3 различных гелях и показал одинаковый рисунок для каждого из гелей.

Специфичность

Антитела, используемые в наборе, специфичны к а1-АТ и показали только осаждение а1-АТ в плазме крови человека.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Isoelectric Focusing in Immobilised pH gradients for the Determination of the Genetic Pi (a1-AT) Variants. Electrophoresis 4 (1983) 153-157, Gorg, A; Postel, WWeser, J et al.
2. Cox, DW. Alpha-1-Antitrypsin Deficiency. 7th Ed. Scriver, CR; Beaudet, AC; Sly, WS; Valle, D eds. The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Diseases. 1995; Vol iii: 4125-4158. McGraw-Hill New York
3. Pierce, JA. Antitrypsin and Emphysema: Perspective and Prospects. JMA 1988; 259: 2890-2895.
4. Jeppsson, JO; Franzen, B. Typing of Genetic Variants of Alpha-1-Antitrypsin by Electrofocusing. Clin Chem. 28/1,219-225(1982).

**Тест-система
«Изоэлектрофокусирование
альфа-1-антитрипсин»
Alpha-1-Antitrypsin IEF kit**



Helena Biosciences Europe
Queensway South
Team Valley Trading Estate
Gateshead
Tyne and Wear
NE11 0SD
Tel. +44(0)191 482 8440
Fax +44 (0)191 482 8442
Email info@helena-biosciences.com
www.helena-biosciences.com
HL-2-1970P 2009/07(1)



ПРЕДПОЛАГАЕМОЕ ИСПОЛЬЗОВАНИЕ

Тест-система «Изоэлектрофокусирование альфа-1-антитрипсин» (Alpha-1-Antitrypsin kit) предназначена для идентификации изменений генов в сыворотке крови человека при помощи изоэлектрического фокусирования и иммунофискации. Варианты альфа-1-антитрипсина разделяются в соответствии с изоэлектрической точкой в IEF геле агарозы с pH 4,2-4,9. Основные варианты – M (норма), F, S и Z, каждый из которых фокусируется между pH 4,5 и 4,7.¹

Альфа-1-антитрипсин (a1-AT) является ингибитором протеазы серина в 52 кДа.² Он предохраняет ткани от старения со стороны протеолитических ферментов, синтезируемых в тканях (в основном эластазы в легких).³ a1-AT синтезируется в печени, а средняя концентрация в плазме здорового человека составляет приблизительно 1,3 г/л. Нормальный a1-AT помечается «M» или «PIMM» (где PI – это ингибитор протеазы, а MM – характер исчерпанности пациента). Существует огромное количество генетических вариаций, связанных с дефицитом a1-AT, который может привести к эмфиземе легких и неонатальному гепатиту. В частности, у пациентов с PIZZ концентрация a1-AT составляет 15% от нормы, а у PISZ – приблизительно 35% от нормы.²

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Все реагенты предназначены только для *in vitro* диагностики. Не глотать и не пипетировать ртом любой из компонентов набора. Фразы безопасности и риска, а также информация по утилизации приведены в инструкции по применению.

СОСТАВ

1. Alpha-1-Antitrypsin Gel (альфа-1-антитрипсин гель) (x10)

Содержит гель агарозы и разделители, pH 4,2-4,9 с добавлением тиомерсала в качестве консерванта. Гель в упаковке готов к использованию.

2. Acid Violet Stain (кислый фиолетовый краситель) (1 x 2 г)

Содержит порошок кислого фиолетового красителя. Растворите содержимое пробирки в 1000 мл раствора промывки. Перемешайте, оставьте на ночь, а перед использованием профильтруйте. Храните смесь в плотно закрытой бутылке.

3. Alpha-1-Antitrypsin Antisera (альфа-1-антитрипсин иммунная сыворотка)

Содержит поликлональную альфа-1-антитрипсин иммунную сыворотку.

Другие компоненты набора

Каждый набор содержит инструкции по применению и достаточное количество шаблонов нанесения образца, шаблонов нанесения иммунной сыворотки, фитилей для электродов, блоттеров A, B, D и X для 10 полных наборов гелей.

ХРАНЕНИЕ И СРОК ГОДНОСТИ

1. Alpha-1-Antitrypsin Gel (альфа-1-антитрипсин гель)

Гели, хранящиеся при температуре от 15 до 30 °C, стабильны до окончания срока годности, указанного на этикетке. ГЕЛИ НЕОБХОДИМО ОХЛАДИТЬ ДО 2...6°C НЕ БОЛЕЕ, ЧЕМ НА 30 МИНУТ ПЕРЕД ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ.

НЕ ЗАМОРАЖИВАТЬ. Разложение геля можно определить по следующим признакам: 1) кристаллы в геле указывают на то, что он замерз, 2) потрескавшаяся и расслоившаяся поверхность указывает на высыхание геля или 3) видимо загрязнение агарозы бактериями или грибами.

2. Acid Violet Stain (Кислый фиолетовый краситель)

Порошковый краситель, хранящийся при температуре от 15 до 30°C, стабилен до окончания срока годности, указанного на этикетке. Растворенный краситель стабилен в течение 6 месяцев при температуре от 15 до 30 °C. Использованный краситель следует выбросить немедленно, чтобы предотвратить использование вещества с ухудшающейся красящей способностью. Низкая красящая способность может указывать на порчу раствора красителя.

3. Alpha-1-Antitrypsin Antisera (альфа-1-антитрипсин иммунная сыворотка)

Набор иммунной сыворотки, хранящийся при температуре от 2 до 6°C, стабилен до окончания срока годности, указанного на этикетке. Загрязнение частицами или помутнение может указывать на порчу продукта.

НЕОБХОДИМЫЕ МАТЕРИАЛЫ, НЕ ВХОДЯЩИЕ В КОМПЛЕКТ ПОСТАВКИ

Код 4065 EIF камера Helena

Код 3039 устройство охлаждения камеры

Код 4062 инкубатор

Блок питания, обеспечивающий напряжение в 500 В.

Груз на 3 кг

Печь-сушилка, с подачей воздуха под давлением и температурой 60...70°C

Раствор промывки – смешайте 500 мл метанола и 500 мл очищенной воды. Добавьте 100 мл ледяной уксусной кислоты. Храните смесь в плотно закрытой бутылке.

Солевой раствор (0,85% NaCl)

Очищенная вода

СБОР И ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦОВ

По возможности следует отбирать свежесобранную сыворотку. Образцы можно хранить при температуре от 2 до 8°C до трех дней или до двух недель при -20°C.

ПОШАГОВАЯ ПРОЦЕДУРА

Примечание. Убедитесь, что охлаждающий блок оставался при 2...6°C не менее 30 минут перед началом процедуры.

Гели необходимо охладить до 2...6°C не более, чем на 30 минут перед использованием.

1. Изложите гель из упаковки, а затем поместите на бумажное полотенце и удалите верхний слой. Краю геля были направлены в центр. АККУРАТНО



ООО ЦИРМИ



INFO@CIRMI.RU



WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

краю геля были направлены в центр. АККУРАТНО

- обработайте поверхность геля блоттером А и выбросьте блоттер.
2. Установите сифонные фитили для электродов в анодном и катодном концах геля.
3. Отцентрируйте ячейки при помощи шаблона размещения образца (ячейки к верхней части) со стрелками на краях геля. Разместите шаблон на геле. Поместите блоттер А сверху на шаблон и проведите пальцем по ячейкам, чтобы обеспечить хороший контакт. Удалите блоттер и сохраните для использования на шаге 5.
4. Поместите по 3 мкл образца в каждую ячейку и оставьте их впитаться на 10 минут.
5. После абсорбции, обработайте шаблон при помощи блоттера А, оставшегося с шага 3, и выбросьте блоттер и шаблон.
6. Убедитесь, что охлаждающий блок хранился при 2...6°C не менее 30 минут перед началом процедуры. Поместите в центральный выступ камеры.
7. Затем поместите при помощи пипетки 500 мкл демонизированной воды на охлаждающий блок. Разместите гель на охлаждающий блок стороной с агарозой вверх, выровняв положительную (+) и отрицательную (-) стороны в соответствующих частях камеры. Закрепите электроды на фитилях, проверьте качество соединения.

Следуйте процедуре, соответствующей прибору

8a. Эксплуатация IEF камеры Helena

- i. С IEF камерой следует использовать следующие параметры:

Напряжение электрофореза 500 В

Время электрофореза – 30 минут

- ii. Убедитесь, что устройство охлаждения камеры хранилось при 2...6°C не менее 30 минут перед началом процедуры. Place into the central trough of the chamber.
9. После фокусировки аккуратно уберите фитили электродов.
10. Поместите гель в инкубатор с влажным бумажным полотенцем и на поверхность геля поместите шаблон размещения иммунной сыворотки. Примечание: обеспечьте плотное прилегание шаблона к гелю.
11. Поместите 250 мкл иммунной сыворотки на оба сегмента шаблона. обеспечьте равномерное распределение иммунной сыворотки покачивая гель.
12. Инкубируйте 15 минут при температуре 15 - 30 °C.
13. После инкубации удалите шаблон ополоснув гель в солевом растворе и немного его покачайте.
14. Поместите гель на бумажное полотенце агарозной стороной вверх. Поместите блоттер В (смоченный в солевом растворе) на поверхность геля, а затем блоттер D и X. Придавите гель грузом в 3 кг и оставьте на 15 минут. Примечание: необходимо оставить гель под грузом в течении всего времени, чтобы удалить как можно больше влаги.
15. Аккуратно снимите блоттеры и поместите гель в солевой раствор на 4 минуты немного его покачивая.
16. Поместите гель на бумажное полотенце агарозной стороной вверх. Поместите блоттер В (смоченный в солевом растворе) на поверхность геля, а затем 2 блоттера D. Придавите гель грузом и оставьте на 5 минут.
17. Повторите шаги 15 и 16 еще раз.
18. Удалите блоттеры и высушите гель при 60-70°C.
19. Погрузите сухой гель в краситель на 1 минуту.
20. Смойте краситель промыв гель дважды по 2 минуты промывочным раствором. Примечание: если гель должен быть без фона, продолжите его промывку.
21. Сполосните гель очищенной водой и высушите при 60-70 °C.

Тест-система «Изоэлектрофокусирование гемоглобина» для прибора V8 (V8 Haemoglobin IEF kit).

Инструкция по применению

REF 800900

Helena Biosciences Europe
Queensway South
Team Valley Trading Estate
Gateshead
Tyne and Wear
NE11 0SD
Тел. +44 (0)191 482 8440
Факс +44 (0)191 482 8442
Эл. почта info@helena-biosciences.com
www.helena-biosciences.com



НАЗНАЧЕНИЕ

V-CE Haemoglobin IEF Kit (комплект для анализа гемоглобина методом изоэлектрического фокусирования) ИЭФ V-КЭ предназначен для разделения и определения концентрации гемоглобина методом капиллярного электрофореза (КЭ). Многие компоненты можно разделить после однократного анализа при минимальном объеме образца и потреблении реактивов.

Основная форма гемоглобина в эритроцитах взрослых — HbA, вместе с небольшим количеством HbA₂ и HbF. Кроме того, на сегодняшний день известно больше 400 различных вариантов гемоглобина, часть которых может оказывать серьезные клинические эффекты, особенно когда они присутствуют в гомозиготном состоянии или в сочетании с другим типом гемоглобина. Wintrobe¹ различает три группы аномалий синтеза гемоглобина:

1. Продукция аномальной белковой молекулы.
2. Снижение синтеза нормального белка.
3. Врожденные аномалии.

При КЭ-разделении гемоглобина используются различные изоэлектрические точки для разных молекул гемоглобина при разделении методом изоэлектрофокусировки в градиенте pH.

В комплекте этот принцип используется 2 путями:

1. Протокол количественного скрининга HbA₂
2. Протокол анализа вариантов Hb в качестве исходной точки на этапах идентификации аномальных форм гемоглобина.

С учетом существования таких многочисленных мутантных форм гемоглобина ни один метод не позволяет однозначно идентифицировать все варианты гемоглобина. Капиллярный электрофорез, имеющийся в V8, позволяет отделить самые распространенные варианты от нормального пика A. Положение на дорожке различных вариантов гемоглобина можно использовать для первичной идентификации какого-либо варианта. Для более точной идентификации можно воспользоваться другим методом или секвенированием белка.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Реактивы, содержащиеся в этом комплекте, предназначены только для диагностики *in vitro*. Не глотайте и не капайте пипеткой в рот какие-либо компоненты комплекта. При манипуляциях со всеми компонентами комплекта используйте перчатки. Данные по безопасности продукта, формулировки, касающиеся безопасности, и сведения об утилизации приведены в спецификации продукта в отношении безопасности.

СОСТАВ

1. Anode Buffer - анодный буфер REF HL-3-2136SA (1 x 200 анализов). Каждый флакон содержит Anode Buffer (анодный буфер) в количестве, достаточном для 200 анализов. Буфер готов к применению, и следует поместить в соответствующее положение на инструменте Helena V8 согласно инструкции в руководстве пользователя.

2. Cathode Buffer- катодный буфер REF HL-3-2137SA (1 x 200 анализов). Каждый флакон содержит Cathode Buffer (катодный буфер) в количестве, достаточном для 200 анализов. Буфер готов к применению, и следует поместить в соответствующее положение на инструменте Helena V8 согласно инструкции в руководстве пользователя.

3. Haemoglobin Ampholyte Buffer - амфотерный гемоглобиновый буфер REF HL-3-2138SA (1 x 200 анализов). Каждый флакон содержит Haemoglobin Ampholyte Buffer (амфотерный гемоглобиновый буфер) в количестве, достаточном для 200 анализов. Буфер готов к применению, и следует поместить в соответствующее положение на инструменте Helena V8 согласно инструкции в руководстве пользователя.

4. Methyl Cellulose Solution - раствор метилцеллюлозы REF HL-3-2139SA (2 x 100 анализов). Каждый комплект содержит Methyl Cellulose Solution (раствор метилцеллюлозы) в количестве, достаточном для 200 анализов. Раствор готов к применению, и его следует поместить в соответствующее положение на инструменте Helena V8 согласно инструкции в руководстве пользователя.

5. Haemoglobin Lysing Agent - реактив, расщепляющий гемоглобин REF HL-3-2140SA (1 x 200 анализов). Каждый флакон содержит Haemoglobin Lysing Agent (реактив, расщепляющий гемоглобин) в количестве, достаточном для 200 анализов. Расщепляющий реактив готов к применению, его следует поместить в соответствующее положение на инструменте Helena V8 согласно инструкции в руководстве пользователя.

6. Фильтр REF HL-3-2130SA. Этот фильтр следует установить на входную трубку переходника для



ООО ЦИРМИ



INFO@CIRMI.RU



WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

1 инструменте Helena V8 согласно инструкции в

руководстве пользователя. Фильтр предназначен для одноразового использования, и его следует заменять при замене фильтра.

7. **Стаканчики для образцов REF HL-3-2134SA (3 x 36).** Стаканчики для образцов следует установить на инструмент Helena V8 согласно руководству пользователя.

8. **Прочие компоненты комплекта.** Каждый комплект содержит инструкцию по применению.

ХРАНЕНИЕ И СРОК ГОДНОСТИ

1. **Anode Buffer - анодный буфер.** Anode Buffer (анодный буфер) следует хранить при 2-8°C, и он остается стабильным до истечения срока годности, указанного на этикетке. Открытые флаконы, установленные на инструменте Helena V8, стабильны в течение 6 месяцев.

2. **Cathode Buffer - катодный буфер.** Cathode Buffer (катодный буфер) следует хранить при 2-8°C, и он остается стабильным до истечения срока годности, указанного на этикетке. Открытые флаконы, установленные на инструменте Helena V8, стабильны в течение 6 месяцев.

3. **Haemoglobin Ampholyte Buffer - амфотерный гемоглобиновый буфер.** Haemoglobin Ampholyte Buffer (амфотерный гемоглобиновый буфер) следует хранить при 2-8°C, и он остается стабильным до истечения срока годности, указанного на этикетке. Открытые флаконы, установленные на инструменте Helena V8, стабильны в течение 6 месяцев.

4. **Methyl Cellulose Solution - раствор метилцеллюлозы.** Methyl Cellulose Solution (раствор метилцеллюлозы) следует хранить при 2-8°C, и он остается стабильным до истечения срока годности, указанного на этикетке. Открытые флаконы, установленные на инструменте Helena V8, стабильны в течение 3 месяцев.

5. **Haemoglobin Lysing Agent - реактив, расщепляющий гемоглобин.** Haemoglobin Lysing Agent (реактив, расщепляющий гемоглобин) следует хранить при 2-8°C, и он остается стабильным до истечения срока годности, указанного на этикетке. Открытые флаконы, установленные на инструменте Helena V8, стабильны в течение 6 месяцев.

НЕОБХОДИМЫЕ КОМПОНЕНТЫ, НЕ ВКЛЮЧЕННЫЕ В КОМПЛЕКТ ПОСТАВКИ

REF 830100 V-CE Storage Buffer — буфер для хранения

REF 830200 V-CE Maintenance Buffer — буфер для поддержания

ОТБОР И ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦОВ

Оптимальный образец — свежесобранная цельная кровь в ЭДТА для предупреждения свертывания. Образцы можно хранить при 2-6°C на протяжении срока до 7 суток. Однако наилучшие результаты получают при анализе свежих образцов, поскольку в процессе хранения образуются продукты распада гемоглобина.

ПОБОЧНЫЕ ФАКТОРЫ

1. Неточные результаты возможны из-за испарения, когда образцы оставляют в незакрытом виде.

ПОСТАНОВКА ПРОЦЕДУРА

1. Убедитесь, что имеется выдвижной ящик для емкости для отходов, и он пуст.
2. До перехода к V8 убедитесь, что имеются буфер для хранения, буфер для поддержания и одноразовые стаканчики, и они находятся в соответствующих положениях. Установка всех расходных компонентов описана в руководстве пользователя.
3. Переключитесь на инструмент Helena V8, как описано в руководстве пользователя.
4. При запуске V8 запустите Platinum 4V и начните новый сеанс КЗ. В Platinum 4V выберите 'CE SYSTEM' (СИСТЕМА КЗ) из выпадающего меню, нажмите на 'DEFAULT METHOD' (МЕТОД ПО УМОЛЧАНИЮ) и выберите V8 Haemoglobin IEF (V8 гемоглобин ИЭФ) как анализ по умолчанию. Выбор отдельных анализов описан в руководстве пользователя.
5. Вставьте флакон с V-CE cathode buffer (катодным буфером V-K3) в отделение для флаконов с жидкостью Helena V8 и убедитесь, что он находится в правильном положении. Чтобы правильно установить флакон с V-CE cathode buffer (катодным буфером V-K3) прежде чем вставлять его в инструмент Helena V8, убедитесь, что на входную трубку переходника для флакона с буфером установлен новый фильтр (см. руководство пользователя).
6. После установки флакона с V-CE cathode buffer (катодным буфером V-K3) автоматически откроется окно 'DEFINE BUFFER' (ОПРЕДЕЛЕНИЕ БУФЕРА) в Platinum 4V. Отсканируйте или введите штрих-код в поле позиции буфера, совпадающий с позицией буфера.
7. Снимите все крышки с Anode buffer (анодного буфера), Ampholyte buffer (амфотерного буфера), Methyl Cellulose solution (раствора метилцеллюлозы) и Haemoglobin lysing agent (реактива, расщепляющего гемоглобин), и убедитесь в том, что все флаконы находятся в правильном положении в области флаконов с реактивами (см. руководство пользователя).
8. Убедитесь, что данные штрих-кода загружены в Platinum 4V, выберите 'CE SYSTEM' (СИСТЕМА КЗ) в выпадающем меню. Нажмите на 'DEFINE REAGENTS' (ОПРЕДЕЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ) и убедитесь, что положение реактивов совпадает с каждым положением на инструменте V8.

211

9. Когда V8 будет готов для обработки образцов, на инструменте начнет мигать красный индикатор.
10. Поместите пробирки с первичными образцами в подставку для образцов и убедитесь, что штрих-код четко виден через окошко в подставке (см. руководство пользователя).
11. Установите подставки для образцов на левую половину транспортной области V8 и закройте крышку, как описано в руководстве пользователя.
12. V8 автоматически начнет анализ всех загруженных образцов, и результаты будут передаваться в Platinum 4V.
13. После анализа и при необходимости запустите режим прекращения работы V8, выключив инструмент, как описано в руководстве пользователя.

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Большинство вариантов гемоглобина клинически никак не проявляются и в основном представляют собой научный интерес. Варианты клинически значимы, когда их присутствие ведет к серповидно-клеточной анемии, талассемиям, пожизненному цианозу, гемолитическим анемиям или эритроцитозу, или если гетерозиготы распространены настолько, что делают целесообразным генетическое консультирование. Сочетания HbS-S, HbS-D-Los Angeles и HbS-O Araf ведут к серьезной серповидно-клеточной анемии.² Несколько вариантов гемоглобина, включая HbH, E-Fort Worth и Lероге, вызывают в крови картину талассемии.² Два варианта гемоглобина, которые имеют наибольшее значение в отношении частота и тяжести патологии, — это HbS и HbC.² Серповидно-клеточная анемия (HbSS) — тяжелое и смертельное заболевание. Оно проявляется в 5-6-месячном возрасте. Клиническое течение включает приступы мучительной боли и лихорадку с анемией, беспокойством, сонливостью и инфарктами почти всех органов. У лиц-гомозигот по HbCC возникает легкая гемолитическая анемия, которую объясняют осаждением или кристаллизацией HbC в эритроцитах. Для случаев заболевания HbSC типичны гемолитическая анемия, которая выражена меньше, чем серповидно-клеточная.

Талассемии — это группа заболеваний, обусловленных аномалией гемоглобина, для которых характерны гипохромия и микроцитоз из-за сниженного синтеза одной цепи глобина (α или β), в то время как синтез второй цепи происходит нормально.^{3,4} Такой несбалансированный синтез приводит к образованию нестабильных цепей глобина. Они осаждаются в эритроцитах, образуя тельца включения, которые укорачивают жизнь клеток. При α -талассемиях α -цепи укорочены или совсем отсутствуют, при β -талассемии аномальны β -цепи. Еще одно количественное нарушение синтеза гемоглобина — наследственная персистенция фетального гемоглобина, которая обусловлена генетическим отсутствием механизма отключения гамма-цепей примерно в 4-месячном возрасте, что приводит к аномально высокому содержанию HbF. Это менее опасное заболевание, чем истинные талассемии, и лица, гомозиготные по генам этого заболевания, нормально развиваются, здоровы клинически и не страдают анемией.⁴

Самые частые аномалии гемоглобина:

Серповидно-клеточная аномалия

Это гетерозиготное состояние, при котором имеются HbA и HbS и нормальное количество HbA2. Результаты указывают на положения миграции (зоны) HbA и HbS.

Серповидно-клеточная анемия

Это гомозиготное состояние, при котором выявляется почти исключительно HbS, хотя может присутствовать и небольшое количество HbF.

Серповидно-клеточная гемоглобинопатия C

Это гетерозиготное состояние, при котором имеются HbS и HbC.

Серповидно-клеточная талассемия

При этом заболевании встречаются HbA, HbF, HbS, and HbA2. При серповидно-клеточной β -талассемии HbA отсутствует. При серповидно-клеточной β^+ -талассемии HbA имеется в сниженных количествах.

Талассемия C

При этом заболевании имеются HbA, HbF и HbC.

Гемоглобинопатия C

При этом гомозиготном состоянии имеется почти исключительно HbC.

Большая талассемия

При этом заболевании встречаются HbF, HbA и HbA2.

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Для верификации всех этапов анализа гемоглобина можно использовать контрольные образцы Helena Biosciences AA₂ Hemo Control (5328) и AFSC Hemo Control (xxxx). Сведения о концентрации гемоглобина и разведении, необходимом для V8, содержатся в инструкции-вкладыше.

НЕДОСТАТКИ

Использование старых или замороженных образцов может приводить к формированию дополнительных побочных пиков, обусловленных продуктами разрушения гемоглобина.

1. Для идентификации некоторых редких форм гемоглобина могут потребоваться анализ цепей гемоглобина (кислотный и щелочной) и структурные исследования.

2. Анионообменная хроматография — самый надежный метод количественного определения HbA2.

количественного определения HbA2 в присутствии HbS или Helena BioSciences Beta-Thal HbA2 Quik Column Procedure (кат. 9341). Количественный анализ HbA2 является самым важным диагностическим тестом при подтверждении β -талассемии.

3. Низкие уровни HbF (1-10%) можно точно определить радиоиммунодиффузионным методом с использованием процедуры Helena BioSciences HbF-QuikPlate Procedure (кат. 9325).

НОРМАЛЬНЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ

Нормальные показатели в разных лабораториях неодинаковы, и по этой причине в каждой лаборатории необходимо установить собственные границы нормы. Границы нормы для человеческого HbA2 составляют 2,5-3,5%.

ХАРАКТЕРИСТИКИ МЕТОДА

В компании Helena BioSciences определены следующие характеристики, которые можно использовать как справочные. В каждой лаборатории необходимо установить собственные характеристики метода.

Точность:

	Воспроизводимость в пределах одного анализа (n = 30)		Воспроизводимость между анализами (n = 300)		Воспроизводимость между разными партиями (n = 3) (N = 30)	
	%	Коэффициент вариации	%	Коэффициент вариации	%	Коэффициент вариации
HbA2	3,1	2,2	3,3	4,2	3,2	4,5
HbS	22,4	1,8	23,1	2,2	23,3	2,8
HbA	96,5	0,9	96,9	2	97	2,2

Чувствительность:

Метод определения гемоглобина V8 IEF может выявлять гемоглобин при концентрации ____ мкг/мл.

Достоверность:

Сравнение с гель-электрофоретическим методом определения гемоглобина Helena BioSciences Haemoglobin IEF Gel дало следующий результат:

$$y = 0,9999 + 0,313 \cdot x, r^2 = 0,888$$

ЛИТЕРАТУРА

1. Wintrobe, M.M., Clinical Haematology 6th Edition, Lefebiger, Philadelphia, 1967.
2. Fairbanks, V.F., 'The Nomenclature and Taxonomy of Hemoglobin Variants', Diagnostic Medicine, Nov/Dec., 53-58, 1980.
3. Weatherall, D.J. and Clegg, J.B., The Thalassemia Syndromes, Blackwell Scientific Publications, Oxford, 1972.
4. Lehman, H. and Huntsman, R.G., Man's Haemoglobins, J.B. Lippincott Co., Philadelphia, 1974.

**Тест-система «Иммунозамещение» для прибора
V8
(V8 Immunodisplacement kit).**

Инструкция по применению

REF 800300

Helena Biosciences Europe
Queensway South
Team Valley Trading Estate
Gateshead
Tyne and Wear
NE11 0SD
Тел. +44 (0)191 482 8440
Факс +44 (0)191 482 8442
Эл. почта info@helena-biosciences.com
www.helena-biosciences.com



HL-2-1847P 2008/12 (1)

214

НАЗНАЧЕНИЕ

V-CE Immunodisplacement kit (комплект для иммуновытеснения V-KЭ) предназначен для разделения и идентификации моноклональных гаммапатий методом капиллярного электрофореза.

Максимальная потребность в иммуновытеснении имеется в клинической лаборатории, где этот метод применяется преимущественно для выявления моноклональных гаммапатий. Моноклональная гаммапатия — это первичная патология, при которой один единственный клон плазматических клеток вырабатывает повышенные уровни иммуноглобулина одного класса и типа. Такие иммуноглобулины называют моноклональными белками, М-белками или парапротеинами. Их наличие может не представлять опасности, а может оставаться невыясненным. В некоторых случаях такие белки являются признаком злокачественной опухоли, такой как миеломная болезнь или макроглобулинемия Вальденстрема. Моноклональные гаммапатии необходимо отличать от поликлональных, так как поликлональные гаммапатии — вторичные патологические состояния, обусловленные такими заболеваниями, как хронические болезни печени, коллагенозы, ревматоидный артрит и хронические инфекции.

Белки, содержащиеся в моче, в основном относятся к белкам плазмы, фильтрующимся через почки. Аномальное появление белков плазмы в моче играет важную роль в исследовании функции почек. Исследование при протеинурии должно включать определения типа и количества экскретируемых белков.^{1,3} Комбинация электрофоретического разделения белков мочи вместе с идентификацией типов белков методом иммунопреципитации позволяет дифференцировать несколько типов протеинурии — физиологическую, клубочковую (селективную и неселективную), канальцевую и протеинурию, сочетающуюся с дисглобулинемиями.^{1,3}

V-CE Immunodisplacement kit (комплект для иммуновытеснения V-KЭ) обеспечивает разделение сывороточных белков по заряду. После инкубации белков с моноспецифичными антисыворотками происходит вытеснение иммуноглобулина определенного типа из дорожки капиллярного электрофореза.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Реактивы, содержащиеся в этом комплекте, предназначены только для диагностики *in vitro*. Не глотайте и не капайте пипеткой в рот какие-либо компоненты комплекта. При манипуляциях со всеми компонентами комплекта надевайте перчатки. Данные по безопасности продукта, формулировки, касающиеся безопасности, и сведения об утилизации приведены в спецификации продукта в отношении безопасности.

СОСТАВ

1. Anti-human IgG antisera. REF HL-3-2125SA (1 x 50 анализов) - антисыворотки к человеческому IgG. В каждом флаконе содержатся антисыворотки в количестве, достаточном для 50 анализов. Антисыворотки готовы к применению, и их следует помещать в соответствующее место на инструменте Helena V8 согласно инструкции в руководстве пользователя.
2. Anti-human IgA antisera. REF HL-3-2126SA (1 x 50 анализов) - антисыворотки к человеческому IgA. В каждом флаконе содержатся антисыворотки в количестве, достаточном для 50 анализов. Антисыворотки готовы к применению, и их следует помещать в соответствующее место на инструменте Helena V8 согласно инструкции в руководстве пользователя.
3. Anti-human IgM antisera. REF HL-3-2127SA (1 x 50 анализов) - антисыворотки к человеческому IgM. В каждом флаконе содержатся антисыворотки в количестве, достаточном для 50 анализов. Антисыворотки готовы к применению, и их следует помещать в соответствующее место на инструменте Helena V8 согласно инструкции в руководстве пользователя.
4. Anti-human kappa antisera. REF HL-3-2128SA (1 x 50 анализов) - антисыворотки к человеческому белку kappa. В каждом флаконе содержатся антисыворотки в количестве, достаточном для 50 анализов. Антисыворотки готовы к применению, и их следует помещать в соответствующее место на инструменте Helena V8 согласно инструкции в руководстве пользователя.
5. Anti-human lambda antisera. REF HL-3-2129SA (1 x 50 анализов) - антисыворотки к человеческому белку lambda. В каждом флаконе содержатся антисыворотки в количестве, достаточном для 50 анализов. Антисыворотки готовы к применению, и их следует помещать в соответствующее место на инструменте Helena V8 согласно инструкции в руководстве пользователя.

ХРАНЕНИЕ И СРОК ГОДНОСТИ

1. Anti-human IgG antisera - антитела к человеческому IgG. Антисыворотки следует хранить при 2-6°C, и они стабильны до истечения срока годности, указанного на этикетке. Открытые флаконы, установленные на область для флаконов с реактивами на инструменте Helena V8, стабильны в течение 4 недель.
2. Anti-human IgA antisera - антитела к человеческому IgA. Антисыворотки следует хранить при 2-6°C, и они стабильны до истечения срока годности, указанного на этикетке. Открытые флаконы, установленные на область для флаконов с реактивами на инструменте Helena V8, стабильны в течение 4 недель.
3. Anti-human IgM antisera - антитела к человеческому IgM. Антисыворотки следует хранить при 2-6°C, и они стабильны до истечения срока годности, указанного на этикетке. Открытые флаконы, установленные на область для флаконов с реактивами на инструменте Helena V8, стабильны в течение 4 недель.
4. Anti-human kappa antisera - антитела к человеческому белку каппа. Антисыворотки следует хранить при 2-6°C, и они стабильны до истечения срока годности, указанного на этикетке. Открытые флаконы, установленные на область для флаконов с реактивами на инструменте Helena V8, стабильны в течение 4 недель.
5. Anti-human lambda antisera - антитела к человеческому белку лямбда. Антисыворотки следует хранить при 2-6°C, и они стабильны до истечения срока годности, указанного на этикетке. Открытые флаконы, установленные на область для флаконов с реактивами на инструменте Helena V8, стабильны в течение 4 недель.

НЕОБХОДИМЫЕ КОМПОНЕНТЫ, НЕ ВКЛЮЧЕННЫЕ В КОМПЛЕКТ ПОСТАВКИ

REF 830100 V-CE Storage Buffer — буфер для хранения
REF 830200 V-CE Maintenance Buffer — буфер для поддержания
REF 800100 V-CE Serum Protein 5-band kit — пятиполосный комплект для анализа сывороточных белков (если проводится пятиполосное разделение)
REF 800200 V-CE Serum Protein 6-band kit — шестиполосный комплект для анализа сывороточных белков (если проводится шестиполосное разделение)

НЕОБЯЗАТЕЛЬНЫЕ КОМПОНЕНТЫ

REF 800400 V-CE Urine analysis centrifugation kit 5-band — пятиполосный комплект для центрифугирования при анализе мочи (если проводится преаналитическое концентрирование и обессоливание с использованием мембранных концентраторов при анализе мочи)
REF 800401 V-CE Urine analysis centrifugation kit 6-band — шестиполосный комплект для центрифугирования при анализе мочи (если проводится преаналитическое концентрирование и обессоливание с использованием мембранных концентраторов при анализе мочи)
REF 800405 V-CE Urine analysis column kit 5-band — пятиполосный комплект для колонки при анализе мочи (если проводится преаналитическое обессоливание при анализе мочи с использованием колоночной хроматографии)
REF 800406 V-CE Urine analysis column kit 6-band — шестиполосный комплект для колонки при анализе мочи (если проводится преаналитическое обессоливание при анализе мочи с использованием колоночной хроматографии)
REF 820500 V-CE Anti-Free kappa anti-sera — антисыворотка к свободной цепи каппа (если проводится иммуновытеснение в сыворотке или моче)
REF 820600 V-CE Anti-Free lambda anti-sera — антисыворотка к свободной цепи лямбда (если проводится иммуновытеснение в сыворотке или моче)
REF 821400 V-CE Anti-IgD anti-sera — антисыворотка к IgD (если проводится иммуновытеснение в сыворотке или моче)
REF 821500 V-CE Anti-IgE kappa anti-sera — антисыворотка к IgE-каппа (если проводится иммуновытеснение в сыворотке или моче)

ОТБОР И ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦОВ

Оптимальной для определения сывороточного белка является свежая сыворотка. Образцы можно хранить при 15-30°C в течение срока до 4 суток, при 2-6°C — до 14 суток и при -20°C — до 6 месяцев. Использование плазмы приведет к образованию полосы фибриногена между бета- и гамма-фракциями. Оптимальный образец для анализа мочи — свежесобранная моча (суточная). Образцы можно хранить при 2-6°C в течение срока до 7 суток. Для более длительного хранения рекомендуется температура -70°C, при которой образцы можно хранить на протяжении срока до 1 месяца. НЕ ХРАНИТЕ образцы при -20°C. Обессоливать образцы следует с использованием любого из REF 800400, REF 800401, REF 800405 или REF 800406.

822

ПОСТАПНАЯ ПРОЦЕДУРА

1. Убедитесь, что имеется выдвижной ящик для емкости для отходов, ящик пуст.
2. До перехода к V8 убедитесь, что имеются буфер для хранения, буфер для поддержания и одноразовые колпачки, и они находятся в соответствующих положениях. Установка всех расходных компонентов описана в руководстве пользователя.
3. Переключитесь на инструмент Helena V8, как описано в руководстве пользователя.
4. При заполнении V8 запустите Platinum 4V и начните новый сеанс КЭ. В Platinum 4V выберите 'CE SYSTEM' (СИСТЕМА КЭ) из выпадающего меню, нажмите на 'DEFAULT METHOD' (МЕТОД ПО УМОЛЧАНИЮ) и выберите соответствующий метод Immunodisplacement assay - иммуновытеснения (см. руководство пользователя). Выбор дополнительного или отдельного анализа описан в руководстве пользователя.
5. Для иммуновытеснения вставьте соответствующий флакон с буфером в отделение для флаконов с жидкостями на Helena V8 и убедитесь, что он находится в правильном положении. Чтобы правильно установить флакон с буфером для анализа сывороточных белков, прежде чем устанавливать его на инструменте Helena V8, убедитесь, что на входную трубку переходника для флакона с буфером установлен новый фильтр (см. руководство пользователя).
6. При установке соответствующего флакона с буфером для анализа сывороточных белков автоматически откроется окно 'DEFINE BUFFER' (ОПРЕДЕЛЕНИЕ БУФЕРА) в Platinum 4V. Отсканируйте или введите штрих-код в поле позиции буфера, совпадающий с позицией флакона.
7. Снимите крышки с флаконов с антисыворотками для иммуновытеснения и установите каждый флакон в нужное положение в области флаконов с реактивами (см. руководство пользователя).
8. Загрузите штрих-код реактива в Platinum 4V, выбрав 'CE SYSTEM' (СИСТЕМА КЭ) из выпадающего меню. Нажмите на 'DEFINE REAGENTS' (ОПРЕДЕЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ) и убедитесь, что положения реактивов соответствует каждой позиции в M8.
9. Когда V8 будет готов для обработки образцов, на инструменте начнет мигать красный индикатор.
10. В отношении образцов, выбранных для дополнительных анализов, но еще НЕ находящихся на инструменте V8, поместите пробирки с первичными образцами в подставку для образцов, при этом убедившись, что штрих-код четко виден через окошечко в подставке (см. руководство пользователя).
11. Установите подставки для образцов на левую половину транспортной области V8 и закройте крышку, как описано в руководстве пользователя.
12. V8 автоматически начнет анализ всех загруженных образцов, и результаты будут передаваться в Platinum 4V.
13. После анализа и при необходимости запустите режим прекращения работы V8, выключив инструмент, как описано в руководстве пользователя.

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Большинство моноклональных белков перемещается в катодный гамма-участок белковой дорожки, но поскольку эти белки аномальны, они могут перемещаться при капиллярном электрофорезе в любой участок глобулинов. Аномальный белок идентифицируют по типу антисыворотки, с которой он реагирует, когда первичный идентифицированный пик извлекают из КЭ-дорожки. Если аномальный белок содержится в низких концентрациях, полоску аномального белка можно извлечь вместе с нормальным поликлональным иммуноглобулином.

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Для верификации всех стадий процедуры иммуновытеснения можно использовать контрольную сыворотку Helena Biosciences Kemtrol Serum Control REF7025.

НЕДОСТАТКИ

1. Реакция с антисыворотками с легким цепям каппа или лямбда, но отсутствует реакция с антисыворотками с тяжелым цепям IgG, IgA или IgM. Образцы, в которых это наблюдается, могут указывать либо на моноклональную гаммопатию со свободными цепями, либо содержать моноклональный белок IgD или IgE. В такой ситуации анализ на IgD следует повторить, заменив антисыворотки к IgD и IgE на другие антисыворотки к другим тяжелым цепям. Отсутствие реакции с антисыворотками к IgD или IgE будет указывать на болезнь свободных легких цепей.
2. Полоса в гамма-участке, не реагирующая с антисыворотками во время электрофореза с иммунофиксацией. У больных с острой воспалительной реакцией может выявляться С-реактивный белок (СРБ).^{6,7} Повышенные уровни альфа-1-антитрипсина и гаптоглобина — дополнительные свидетельства в пользу СРБ.
3. Отсутствие реакции с антисыворотками к цепям каппа и лямбда. В отдельных случаях образцы будут реагировать с антисывороткой к тяжелым цепям, но не к легким цепям. В такой

- а) болезнь тяжелых цепей;
- б) очень высокие концентрации легких цепей, что ведет к избытку антигена;
- в) низкие концентрации легких цепей;
- г) атипичные молекулы легких цепей, не реагирующие с антисывороткой;
- д) легкие цепи со «скрытыми» детерминантами легких цепей (как иногда наблюдается в отношении IgA и IgD).

Чтобы получить однозначные результаты, в ходе анализа могут потребоваться:

- а) большая или меньшая степень разведения образца для оптимизации соотношения антитело/антиген,
- б) обработка образца β -2-меркаптоэтанолом для «проявления» легких цепей.

ХАРАКТЕРИСТИКИ МЕТОДА

Проведены серия анализов и сравнение с коммерческим тест-комплектom, при этом оба комплекта показали одинаковые результаты.

ЛИТЕРАТУРА

1. Fauchier, P. and Catalan, F. 'Interpretive Guide to Clinical Electrophoresis' Alfred Fournier Institute, Paris, France, 1988.
2. Killingsworth, L.M., Cooney, S.K. and Tyllia, M.M. 'Finding Clues to Disease in Urine' Diagnostic Medicine, 1980; May/June: 69-75.
3. Umbreit, A. and Wiedemann, G. 'Determination of Urinary Protein Fractions. A Comparison With Different Electrophoretic Methods and Quantitatively Determined Protein Concentrations' Clin. Chim. Acta., 2000; 297: 163-172.
4. Wiedemann, G. and Umbreit, A. 'Determination of Urinary Protein Fractions by Different Electrophoretic Methods', Clin. Lab.; 1999, 45: 257-262.
5. Wong, W.K., Wieringa, G.E., Stec, Z., Russell, J., Cooke, S., Keevil, B.G. and Lockhart, S. 'A Comparison of Three Procedures for the Detection of Bence-Jones Proteinuria' Ann. Clin. Biochem., 1997, 34: 371-374.
6. Jeppsson, J.O., Laurell, C.B. and Franzen, B., 'Agarose Gel Electrophoresis', Clin. Chem., 1979; 25 (4): 629-638.
7. Killingsworth, L.M., Cooney, S.K. and Tyllia, M.M., 'Protein Analysis', Diagnostic Medicine, 1980; Jan/Feb: 3-15.

Тест-система «Иммунофиксация-4» для прибора SAS-1 (SAS-1 IFE-4 Kit)

НАЗНАЧЕНИЕ

Тест-система предназначена для разделения и идентификации моноклональных гаммопатий методом электрофореза в агарозном геле.

Электрофорез с иммунофиксацией (IFE) – это двухступенчатая процедура, использующая электрофорез высокого разрешения в агарозном геле на первом этапе и иммунофиксацию на втором этапе.

Наибольшая потребность в IFE присутствует в клинических лабораториях, где метод используется в первую очередь для определения моноклональных гаммопатий. Моноклональная гаммопатия – это первичное состояние заболевания, при котором один клон клеток плазмы производит повышенные уровни иммуноглобулина определенного класса и типа. Такие иммуноглобулины называют моноклональными белками, М-белками или парапротеинами. Их присутствие может носить неопасный характер или иметь сомнительное значение. В некоторых случаях они указывают на злокачественное развитие заболевания, например множественная миелома или макроглобулинемия Вальденстрема. Следует дифференцировать поликлональную и моноклональную гаммопатию, так как поликлональные гаммопатии представляют собой вторую стадию заболевания, обусловленную клиническими нарушениями, такими как хроническое заболевание печени, коллагеновые нарушения, ревматический артрит и хроническая инфекция.

Белки мочи образуются в первую очередь на основе белков плазмы, которые фильтруются почками. Присутствие аномальных белков плазмы в моче имеет важнейшее значение при оценке почечной функции. Соответствующее исследование протеинурии должно включать количественную и качественную оценки типов и количества выделяемых белков.¹⁻⁵ Комбинация разделения белков мочи методом электрофореза в сочетании с идентификацией отдельных типов белков методом иммунопреципитации позволяет дифференцировать различные типы протеинурии – физиологическую, гломерулярную (селективную и неселективную), тубулярную, а также протеинурию, ассоциируемую с дисглобулинемиями.¹⁻⁵

В литературе иммунофиксация была впервые описана Альфонсо (Alfonso) в 1964 г.⁶ Альпер (Alper) и Джонсон (Johnson) опубликовали более удобную процедуру в 1969 г., а также опубликовали количество исследований, использующих данную методику.⁷⁻⁹ Иммунофиксация использовалась в качестве процедуры для исследования иммуноглобулинов с 1976 г.¹⁰⁻¹¹ Набор аксессуаров SAS-3 IFE используется для разделения белков сыворотки в соответствии с зарядом в агарозном геле. Белки затем инкубируют с моносферической антисывороткой, промывают и окрашивают в целях обеспечения визуализации иммунопреципитата для количественной интерпретации.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Все реагенты предназначены только для диагностического использования в условиях in-vitro. Не глотать и не пипетировать ртом ни один компонент набора. Надевать перчатки при работе со всеми компонентами набора. См. паспорт безопасности химического вещества, положения о рисках и обеспечении безопасности, а также информацию об утилизации.

СОСТАВ

1. SAS-1 Гель для иммунофиксации

Содержит агарозу в Трис/барбитал буфере с тиомерсалом и азидом натрия в качестве консерванта. Гель упакован готовым к употреблению.

2. Кислотный фиолетовый краситель, концентрат



Тел. +44 (0)191 482 8440
Факс +44 (0)191 482 8442
Эл. почта info@helenabiosciences.com
www.helena-biosciences.com

Helena Biosciences Europe Queensway South,
Team Valley Trading Estate, Gateshead,
Tyne and Wear, NE11 0SD, United Kingdom

Содержит концентрированный кислотный фиолетовый краситель. Довести содержимое бутылки до 700 мл с использованием очищенной воды. Перемешать, оставить на ночь, отфильтровать перед использованием. Хранить в бутылке с плотно закрывающейся крышкой.

3. Обесцвечивающий раствор

Содержит концентрированный обесцвечивающий раствор. Довести содержимое бутылки А до 2-х литров с использованием очищенной воды. Затем добавить содержимое бутылки с обесцвечивающим раствором В и еще 3 литра очищенной воды, медленно.

4. Промывочный раствор

Содержит 100 мл концентрированного промывочного раствора. Довести 20 мл до 1 литра с использованием солевого раствора.

5. Разбавитель образца

Содержит буфер Трис/барбитал с бромфенолом синим и азидом натрия в качестве консерванта. Разбавитель упакован готовым к употреблению.

6. Набор антисыворотки SAS-3 IFE

Содержит фиксирующий раствор SP (в составе уксусная кислота и сульфосалициловая кислота), и моносферическую антисыворотку к иммуноглобулинам человека – IgG, IgA, IgM, каппа легким цепям (свободным и связанным) и лямбда легким цепям (свободным и связанным). Антисыворотка содержит азид натрия в качестве консерванта. Антисыворотка упакована готовым к употреблению.

7. Другие компоненты набора

Каждый набор содержит инструкцию по применению и достаточное количество промокательной бумаги В, С, D, X и гребенок-блоттеров для выполнения 10 гелей.

УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И СРОК ГОДНОСТИ

1. SAS-1 Гель для иммунофиксации

Гель следует хранить при температуре 15-30°C, в этом случае гели сохраняют стабильность до окончания срока годности, указанного на упаковке. НЕ ОХЛАЖДАТЬ И НЕ ЗАМОРАЖИВАТЬ. Испорченный гель можно определить по следующим признакам: 1) кристаллический внешний вид, который указывает на то, что гель был заморожен; 2) ломкость и отслаивание, свидетельствующие о высыхании геля; 3) видимое загрязнение агарозы бактериальными или грибковыми источниками.

2. Кислотный фиолетовый краситель

Концентрат красителя следует хранить при температуре 15-30°C, в этом случае он сохраняет стабильность до окончания срока годности, указанного на ярлыке. Раствор красителя стабилен в течение 6 месяцев при температуре 15-30°C. Рекомендуется незамедлительно утилизировать использованный краситель в целях предотвращения снижения окрашивающей способности. Низкая эффективность окрашивания может указывать на порчу раствора красителя.

3. Обесцвечивающий раствор

Концентрат обесцвечивающего раствора следует хранить при температуре 15-30°C, в этом случае он сохраняет стабильность до окончания срока годности, указанного на ярлыке. Раствор стабилен в течение 6 месяцев при температуре 15-30°C.

4. Промывочный раствор

Концентрат промывочного раствора следует хранить при температуре 15-30°C, в этом случае он сохраняет стабильность до окончания срока годности, указанного на ярлыке. Раствор стабилен в течение 6 месяцев при температуре 15-30°C. Помутнение может свидетельствовать о порче.

5. Разбавитель образца

Разбавитель образца следует хранить при температуре 15-30°C, в этом случае он сохраняет стабильность до окончания срока годности, указанного на ярлыке. Помутнение может свидетельствовать о порче.

6. Набор антисыворотки SAS-1 IFE



Тел. +44 (0)191 482 8440
Факс +44 (0)191 482 8442
Эл. почта info@helena-biosciences.com

www.helena-biosciences.com

Helena Biosciences Europe Queensway South,
Team Valley Trading Estate, Gateshead,
Tyne and Wear, NE11 0SD, United Kingdom

Набор антисыворотки следует хранить при температуре 2-6°C, в этом случае он сохраняет стабильность до окончания срока годности, указанного на ярлыке. Инородные включения или помутнение могут свидетельствовать о порче.

НЕОБХОДИМЫЕ КОМПОНЕНТЫ, НЕ ВКЛЮЧЕННЫЕ В НАБОР

Номер по каталогу 210200 Ножи аппликатора для образцов (1 x 10)
 Номер по каталогу 210300 Ножи аппликатора для образцов (5 x 10)
 Номер по каталогу 210100 Одноразовые колпачки для образцов (100)
 Номер по каталогу 5014 Пресс (2,3 кг)
 Номер по каталогу 3100 REP Prep
 Сушильная печь с принудительным движением воздуха, нагрев до 60-70°C
 Солевой раствор (0,85% NaCl)

Следующие позиции не требуются для стандартного IFE сыворотки, однако могут потребоваться для проведения дальнейших исследований и исследований IFE мочи:

Номер по каталогу 220100 Антисыворотка к человеческому общему белку в моче (2 мл)
 Номер по каталогу 220200 Антисыворотка к человеческому микробелку в моче (2 мл)
 Номер по каталогу 220300 Антисыворотка к человеческому макробелку в моче (2 мл)
 Номер по каталогу 220400 Антисыворотка к человеческому GAM белку (2 мл)
 Номер по каталогу 220700 Антисыворотка к человеческой свободной и связанной каппа легкой цепи (2 мл)
 Номер по каталогу 220800 Антисыворотка к человеческой свободной и связанной лямбда легкой цепи (2 мл)
 Номер по каталогу 220500 Антисыворотка к человеческой свободной каппа легкой цепи (2 мл)
 Номер по каталогу 220600 Антисыворотка к человеческой свободной лямбда легкой цепи (2 мл)
 Номер по каталогу 220900 Антисыворотка пентавалентная к человеческому белку/альбумину в моче (2 мл)
 Номер по каталогу 221000 Антисыворотка пентавалентная к человеческому белку в моче (2 мл)
 Номер по каталогу 9249 Антисыворотка к IgD человека
 Номер по каталогу 9250 Антисыворотка к IgE человека
 Номер по каталогу 9400 Набор контролей IFE

ОТБОР И ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦОВ

Предпочтение следует отдать свежесобраным образцам сыворотки или мочи. Образцы сыворотки допускается хранить при температуре 15-30°C до 4-х дней, при 2-6°C до 2-х недель или 6 месяцев при -20°C. Образцы мочи следует оставить неразбавленными. Образцы сыворотки следует развести с использованием разбавителя в соответствии со следующей таблицей:

Моноклональная концентрация	Дорожка SP	G, A, M, κ, λ
<3 г/л	1+2	Неразбавленный
3-10 г/л	1+2	1+4
10-25 г/л	1+2	1+9
25-50 г/л	1+2	1+19

ПОШАГОВАЯ ПРОЦЕДУРА

1. Пипетировать 35μл образца в соответствующую лунку поддона для образцов SAS-1 или в одноразовый колпачок для образцов.

i) Пользователи SAS-1 и SAS-1 Plus: Осторожно поместить поддон для образцов в ящик аппликатора. Установить поддон в соответствующее положение с применением нажатия.



Тел. +44 (0)191 482 8440
 Факс +44 (0)191 482 8442
 Эл. почта info@helena-biosciences.com
www.helena-biosciences.com

Helena Biosciences Europe Queensway South,
 Team Valley Trading Estate, Gateshead,
 Tyne and Wear, NE11 0SD, United Kingdom

ii) **Пользователи SAS-3:** Осторожно поместить поддон для образцов при помощи позиционирующих штырьков для поддона с образцами. Убедитесь, что поддон надежно установлен.

2. Извлечь гель из упаковки и:

i) **Пользователи SAS-1:** поместить гель в SAS-1 стороной с агарозой вверх, соединив положительные и отрицательные стороны соответствующими стойками электродов.

ii) **Пользователи SAS-1 Plus:** нанести 400µл REP Prep на теплоотвод. Поместить гель на теплоотвод стороной с агарозой вверх, совместив положительные и отрицательные стороны с соответствующими стойками электродов, при этом следует исключить попадание пузырьков воздуха под гель.

iii) **Пользователи SAS-3:** поместить направляющую на штырьки и нанести 400µл REP Prep на центр камеры. Поместить гель в камеру стороной с агарозой вверх, с использованием направляющей, совместив положительные и отрицательные стороны с соответствующими стойками электродов, при этом следует исключить попадание пузырьков воздуха под гель.

3. Промокнуть поверхность геля промокательной бумагой C, утилизировать бумагу.

4. i) **Пользователи SAS-1:** подсоединить электроды к верхней части стоек электродов таким образом, чтобы они контактировали с блоками геля.

ii) **Пользователи SAS-1 Plus:** (см. выше). Поместить крышку на гель и электроды и плотно прижать на 5 секунд для обеспечения контакта.

iii) **Пользователи SAS-3:** подсоединить электроды к стойкам таким образом, чтобы они контактировали с блоками геля.

5. Установить в прибор 2 ножа аппликатора в сборе в соответствующую позицию (**Пользователи SAS-3:** слот A и 10).

6. Выполнить электрофорез с иммунофиксацией:

i) **Пользователи SAS-1:** 80 вольт, 20 минут

ii) **Пользователи SAS-1 Plus:** Электрофорез : 100 Вольт, 18 минут, 20°C.

Инкубация, шаг 1: 8 минут, 37°C (инкубировать)

Инкубация, шаг 2: 8 минут, 40°C (промокательная бумага D)

iii) **Пользователи SAS-3:**

Шаг	Время (мин:сек)	Температура (°C)	Напряжение	Другое
Загрузка образца	00:30	21		Скорость 1
Нанесение пробы	00:30	21		Скорость 1*
Электрофорез	17:00	21	100	
Применить антисыворотку	10:00	21		
Установить гребенки	02:00	21		
Промокательная бумага D	05:00	40		
Сушка	08:00	54		
*Использование помещения 2				

ПРИМЕЧАНИЕ: Для иммунофиксации сыворотки необходимо 1 нанесение образца. Для иммунофиксации мочи требуются 10 нанесений образцов. Перед сушкой следует извлечь блоки геля.

7. По завершении электрофореза (**Пользователи SAS-1 Plus:** снять крышку), удалить электроды с поверхности геля. (**Пользователи SAS-3:** снять направляющую). Поместить шаблон антисыворотки



Тел. +44 (0)191 482 8440
Факс +44 (0)191 482 8442
Эл. почта info@helenabiosciences.com

www.helena-biosciences.com

Helena Biosciences Europe Queensway South,
Team Valley Trading Estate, Gateshead,
Tyne and Wear, NE11 0SD, United Kingdom

на поверхность геля. **ПРИМЕЧАНИЕ:** Каналы для антисыворотки следует наложить на квадрат, отмеченный на геле, на который наносят образцы.

8. Нанести 2 капли (или 50µл) фиксирующего раствора для белков (сыворотка) или общей антисыворотки (моча) в верхнее отверстие дорожки SP и 2 капли (или 50µл) соответствующей антисыворотки в верхнее отверстие иммуноглобулиновых дорожек. Следует убедиться, что фиксирующий раствор и антисыворотка полностью заполнили каналы.

9. Инкубировать гель. (**Пользователи SAS-1:** инкубировать при 15-30°C).

10. По завершении инкубации поместить гребенку-блоттер в отверстия шаблона антисыворотки. Оставить на 2 минуты для абсорбции излишков антисыворотки, затем удалить гребенку и шаблон с поверхности геля

11. i) **Пользователи SAS-1:** удалить блоки геля с использованием средства для удаления блоков геля и промыть гель промывочным раствором в течение 5 минут.

ii) **Пользователи SAS-1 и SAS-1 Plus:** Поместить промокательную бумагу D (гладкой стороной вниз) на поверхность геля, оставить на 10 секунд и удалить.

12. i) **Пользователи SAS-1:** Поместить гель на промокательную бумагу D стороной с агарозой вверх. Поместить промокательную бумагу B (смоченную солевым раствором) на поверхность геля, затем положить два листа промокательной бумаги X. Оставить гель под прессом на 10 минут.

ii) **Пользователи SAS-1 и SAS-1 Plus:** Поместить промокательную бумагу D (гладкой стороной вниз) на поверхность геля и вновь положить шаблон антисыворотки, чтобы обеспечить горизонтальное положение промокательной бумаги. Выполнить абсорбцию геля.

13. i) **Пользователи SAS-1:** Удалить промокательную бумагу и поместить гель в промывочный раствор на 4 минуты, осторожно помешивая.

ii) **Пользователи SAS-1 Plus и SAS-3:** Удалить промокательную бумагу D.

14. i) **Пользователи SAS-1:** Извлечь гель из промывочного раствора и поместить на промокательную бумагу D стороной с агарозой вверх. Поместить промокательную бумагу B (смоченную промывочным раствором) на поверхность геля, затем положить промокательную бумагу D. Оставить под прессом на 3 минуты.

ii) **Пользователи SAS-1 Plus и SAS-3:** удалить блоки геля с использованием средства для удаления блоков геля. Перейти к шагу 16.

15. i) **Пользователи SAS-1:** Удалить всю промокательную бумагу. **ПРИМЕЧАНИЕ:** Сразу после использования необходимо очистить шаблон антисыворотки с применением мягкого биоцидного моющего средства. Если возможно, потрите дно шаблона зубной щеткой или маленькой щеткой для пробирок. Не допускайте высыхания антисыворотки на шаблоне. Отложения антисыворотки на поверхности шаблона приведут к образованию пузырьков воздуха во время выполнения шага нанесения антисыворотки. Необходимо тщательно высушить шаблон антисыворотки. Вода, оставшаяся в отверстиях, будет препятствовать нанесению антисыворотки в следующий раз. Хранить шаблон следует перевернутым вверх дном в целях улучшения циркуляции воздуха, и, тем самым, способствуя сушке аппликатора.

16. Установить гель в держатель камеры для окрашивания.

17. Выбрать программу IFE на приборе для окрашивания и, следуя указаниям программы, выполнить промывку, окрашивание, обесцвечивание и сушку геля.

а) SAS-2 (Прибор для автоматического окрашивания)

Шаг	Раствор	Время (мин:сек)	Порт	Температура (°C)
Сушка	---	10:00		55
Промывка	Промывочный	07:00	4	



Тел. +44 (0)191 482 8440
Факс +44 (0)191 482 8442
Эл. почта info@helena-biosciences.com
www.helena-biosciences.com

Helena Biosciences Europe Queensway South,
Team Valley Trading Estate, Gateshead,
Tyne and Wear, NE11 0SD, United Kingdom

	раствор			
Окрашивание	Кислотный фиолетовый краситель	03:00	5	
Обесцвечивание	Обесцвечивающий раствор	02:00	2	
Сушка	---	05:00		65
Промывка	Промывочный раствор	03:00	4	
Промывка	Промывочный раствор	03:00	4	
Сушка	---	05:00		65

б) SAS-4 (Прибор для автоматического окрашивания)

Шаг	Время (мин:сек)	Температура (°C)	Другое
Промывка	00:03		Рециркуляция ВКЛ
Промывка	10:00		Рециркуляция ВКЛ
Окрашивание	04:00		Рециркуляция ВКЛ
Обесцвечивание	02:00		Рециркуляция ВКЛ
Обесцвечивание	02:00		Рециркуляция ВКЛ
Сушка	12:00	63	

с) Вручную

Следовать последовательности действий, указанной для прибора для автоматического окрашивания SAS-2, используя кювету для шагов фиксации, окрашивания, обесцвечивания и промывки, и сушильную печь с рециркуляцией воздуха и нагревом до 60-70°C для шагов сушки.

18. По окончании цикла окрашивания извлечь гель из камеры для окрашивания. Теперь гель готов для исследования.

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

При электрофорезе белков большая часть моноклональных белков мигрирует в катодный гамма-регион шаблона белков, однако вследствие аномальности их природы они могут мигрировать в любое место в рамках зоны глобулинов. Полоса моноклонального белка на паттерне иммунофиксации будет занимать ту же позицию и иметь ту же форму, что и аномальная полоса на паттерне белков сыворотки. Аномальный белок определяют по типу антисыворотки, с которой он вступает в реакцию.

При наличии низких концентраций аномального белка аномальная полоса может появиться в рамках нормального поликлонального иммуноглобулина. Полосу также можно будет увидеть на поликлональном фоне, где также присутствует значительное количество поликлонального иммуноглобулина.

Публикация "Immunofixation for the Identification of Monoclonal Gammopathies" доступна в Helena BioSciences по запросу.

Иммунофиксация мочи:

Тип протеинурии	Полосы, наблюдаемые на геле	Присутствующие белки
Нормальная моча	небольшая полоса альбумина	альбумин
Гломерулярная	альбумин, альфа-1, бета, гамма	альбумин, альфа-1, антитрипсин, трансферрин,



Тел. +44 (0)191 482 8440
Факс +44 (0)191 482 8442
Эл. почта info@helenabiosciences.com
www.helena-biosciences.com

Helena Biosciences Europe Queensway South,
Team Valley Trading Estate, Gateshead,
Tyne and Wear, NE11 0SD, United Kingdom

		гаммаглобулины
Тубулярная	альфа-1, альфа-2, бета	ретинол-связывающий белок, бета2-микроглобулин, альфа2-микроглобулин
Обильное выделение	гамма или различные	иммуноглобулины, свободные легкие цепи

ОГРАНИЧЕНИЯ

1. Излишек антигена

Излишек антигена происходит в случае отсутствия небольшого излишка антител или равенства антигена/антител на стадии осаждения. Излишек антигена при иммунофиксации обычно обусловлен излишком иммуноглобулина в образце пациента. Излишек антигена характеризуется прозоной (неокрашенными участками в центре иммунофиксированной полосы белка, с окраской по краям). В таком случае следует использовать более высокую степень разведения образца с целью оптимизации концентрации иммуноглобулина.

2. Неспецифическая преципитация во всех иммуноглобулиновых дорожках.

Иногда выполненный планшет IFE демонстрирует полосу преципитата в одной и той же позиции на каждом паттерне по всему планшету. Такая ситуация может возникнуть по нескольким причинам:

а) IgM моноклональные иммуноглобулины.

IgM моноклональные белки могут приклеиваться к матрице геля. Полоса появится во всех 5 дорожках антисыворотки на геле. Тем не менее, там где полоса вступает в реакцию со специфической антисывороткой к тяжелым цепям и легким цепям, будет отмечено увеличение размера и интенсивности окрашивания полосы, что позволит идентифицировать тип иммуноглобулина. Дополнительное разведение пробы улучшит различия между реакцией IgM антител и неспецифического окрашивания осажденного IgM белка в других дорожках, что упростит диагноз.

б) Высокие титры RF или иммунные комплексы.

Образцы с высокими титрами ревматоидного фактора или других иммунных комплексов могут демонстрировать полосу преципитата в одном и том же месте нанесения. Понижение концентрации образца с использованием DTT или бета-2-меркаптоэтанол может устранить данную неспецифическую реакцию. (Смешать 190μл разбавленной сыворотки с 10μл 1% (вес/объем) ВЕЕ в солевом растворе 0,85% или смешать 100μл сыворотки с 10μл водного раствора 1:10 β -2-меркаптоэтанол. Выполнить иммунофиксацию как обычно. ПРИМЕЧАНИЕ: при использовании β -2-меркаптоэтанол обязательно использовать пароуловитель).

в) Фибриноген.

Фибриноген, если присутствует в пробе, продемонстрирует четкую полосу во всех дорожках паттерна иммунофиксации. Фибриноген присутствует в плазме, и иногда в сыворотке пациентов, проходящих антикоагуляционную терапию.

3. Реакции с антисывороткой к легким цепям каппа и лямбда, однако отсутствие реакции с IgG, IgA или антисывороткой к тяжелым цепям IgM.

Образцы, демонстрирующие подобный паттерн, либо характеризуются моноклональной гаммопатией со свободными легкими цепями, или содержат моноклональный белок IgD или IgE. В данной ситуации иммунофиксацию следует повторить, заменив антисывороткой к IgD и IgE две другие антисыворотки к тяжелым цепям. Невозможность получить реакцию с антисывороткой к IgD и IgE может указывать на болезнь свободных легких цепей.

4. Полоса в катодном конце гамма-участка показывает отсутствие реакции с антисывороткой IFE.



Тел. +44 (0)191 482 8440
Факс +44 (0)191 482 8442
Эл. почта info@helena-biosciences.com

www.helena-biosciences.com

Helena Biosciences Europe Queensway South,
Team Valley Trading Estate, Gateshead,
Tyne and Wear, NE11 0SD, United Kingdom

C-реактивный белок (CRP) может быть обнаружен у пациентов с острым воспалительным процессом. ^{6,7} CRP появляется в виде широкой полосы в катодном конце шаблона белков сыворотки. Повышенные уровни альфа-1 – антитрипсин и гаптоглобина являются вспомогательными свидетельствами присутствия CRP. У пациентов с полосой CRP, возможно, будет выявлен повышенный уровень при тестировании на CPR. В некоторых случаях может быть видна узкая полоса в точке нанесения образца, что может быть обусловлено хиломикронами в сыворотке или осажденным белком в образцах, которые были заморожены.

5. Отсутствие реакции с каппа и лямбда антисывороткой.

Иногда образец может вступать в реакцию с тяжелой цепью антисыворотки, при этом не наблюдается реакции с легкой цепью. В такой ситуации необходимо исключить следующее: а) заболевание, связанное с тяжелыми цепями, б) очень большие концентрации легких цепей, что приводит к излишку антигена, в) низкие концентрации легких цепей, г) атипичная молекула легких цепей, которая не вступает в реакцию с антисывороткой, д) легкие цепи со «скрытыми» детерминантами легких цепей (что иногда наблюдается с IgA и IgD). Для получения определенных результатов тестирование может включать а) более высокую или низкую степень разбавления образца с целью оптимизации равенства антител/антигенов, б) использование антисыворотки более чем от одного производителя с целью облегчения идентификации атипичных иммуноглобулинов, и в) обработка образца β-2-меркаптоэтанолом с целью «обнаружения» легких цепей.

РАБОЧИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Ряд образцов были протестированы и подвержены сравнению с другим имеющимся в продаже тестовым набором – оба набора продемонстрировали одинаковые результаты.

БИБЛИОГРАФИЯ

1. Fauchier, P. and Catalan, F. 'Interpretive Guide to Clinical Electrophoresis' Alfred Fournier Institute, Paris, France, 1988.
2. Killingsworth, L.M., Cooney, S.K. and Tyllia, M.M. 'Finding Clues to Disease in Urine' Diagnostic Medicine, 1980; May/June: 69-75.
3. Umbreit, A. and Wiedemann, G. 'Determination of Urinary Protein Fractions. A Comparison With Different Electrophoretic Methods and Quantitatively Determined Protein Concentrations' Clin. Chim. Acta., 2000; 297: 163-172.
4. Wiedemann, G. and Umbreit, A. 'Determination of Urinary Protein Fractions by Different Electrophoretic Methods', Clin. Lab.; 1999, 45: 257-262.
5. Wong, W.K., Wieringa, G.E., Stec, Z., Russell, J., Cooke, S., Keevil, B.G. and Lockhart, S. 'A Comparison of Three Procedures for the Detection of Bence-Jones Proteinuria' Ann. Clin. Biochem., 1997, 34: 371-374.
6. Afonso, E., 'Quantitation Immuno-electrophoresis of Serum Proteins', Clin. Chim. Acta., 1964; 10: 114-122.
7. Alper, C.A. and Johnson, A.M., 'Immunofixation Electrophoresis: A Technique for the Study of Protein Polymorphism', Vox. Sang., 1969; 17: 445-452.
8. Alper, C.A., 'Genetic Polymorphism of Complement Components as a Probe of Structure and Function', Progress in Immunology. First International Congress of Immunology. 1971: 609-624, Academic Press, New York.
9. Johnson, A.M., 'Genetic Typing of Alpha(1)-Antitrypsin in Immunofixation Electrophoresis. Identification of Subtypes of Pi M.', J. Lab. Clin. Med., 1976; 87: 152-163.
10. Cawley, L.P., Minard, B.J., Tourtellotte, W.W., Ma, B.I. and Chelle, C., 'Immunofixation Electrophoretic Technique Applied to Identification of Proteins in Serum and Cerebrospinal Fluid', Clin. Chem., 1976; 22: 1262-1268.
11. Ritchie, R.F. and Smith, R. 'Immunofixation III, Application to the Study of Monoclonal Proteins', Clin. Chem., 1976; 22: 1982-1985.
12. Jeppsson, J.O., Laurell, C.B. and Franzen, B., 'Agarose Gel Electrophoresis', Clin. Chem., 1979; 25 (4): 629-638.
13. Killingsworth, L.M., Cooney, S.K. and Tyllia, M.M., 'Protein Analysis', Diagnostic Medicine, 1980; Jan/Feb: 3-15.



Тел. +44 (0)191 482 8440
Факс +44 (0)191 482 8442
Эл. почта info@helena-biosciences.com
www.helena-biosciences.com

Helena Biosciences Europe Queensway South,
Team Valley Trading Estate, Gateshead,
Tyne and Wear, NE11 0SD, United Kingdom



helena
BIOSCIENCES



Тел. +44 (0)191 482 8440
Факс +44 (0)191 482 8442
Эл. почта info@helena-biosciences.com
www.helena-biosciences.com

Helena Biosciences Europe Queensway South,
Team Valley Trading Estate, Gateshead,
Tyne and Wear, NE11 0SD, United Kingdom

Тест-система «Карбогидрат-дефицитный трансферрин» для прибора V8 - V8 Carbohydrate Deficient Transferrin kit.

Инструкция по применению

REF 803100

Helena Biosciences Europe
Queensway South
Team Valley Trading Estate
Gateshead
Tyne and Wear
NE11 0SD
Тел. +44 (0)191 482 8440
Факс +44 (0)191 482 8442
Эл. почта info@helena-biosciences.com
www.helena-biosciences.com



HL-2-1913P 2008/12 (1)

НАЗНАЧЕНИЕ

Тест-система предназначена для идентификации изоформ трансферрина, дефицитных по углеводам, в человеческой сыворотке путем капиллярного зонного электрофореза.

Трансферрин — это белок-переносчик железа, для которого характерна микрогетерогенность, обусловленная различиями в степени гликозилирования и насыщения железа.¹ Среди изоформ трансферрина в крови преобладающие варианты содержат четыре молекулы сиаловой кислоты, связанных с двумя цепочками олигосахаридов.^{1,2} Эти остатки сиаловой кислоты влияют на электрофоретическую активность молекулы трансферрина, и их последовательное удаление дает минимум 6 возможных заряженных состояний.^{1,3}

Трансферрин, дефицитный по углеводам — это общее название молекул с малым числом остатков сиаловой кислоты (асиало-, моносиало- и дисиало-), которые встречаются в повышенном количестве у больных, хронически злоупотребляющих алкоголем. Трансферрин, дефицитный по углеводам, в настоящее время считается самым надежным маркером алкоголизма.^{4,5} Суточное потребление алкоголя больше 50-80 г на протяжении двух недель приводит к изменениям в распределении изоформ трансферрина.⁶

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Реактивы, содержащиеся в этом комплекте, предназначены только для диагностики *in vitro*. Не глотайте и не какайте пипеткой в рот какие-либо компоненты комплекта. При манипуляциях со всеми компонентами комплекта используйте перчатки. Данные по безопасности продукта, формулировки, касающиеся безопасности, и сведения об утилизации приведены в спецификации продукта в отношении безопасности.

СОСТАВ

1. CDT Buffer - буфер ТДУ, REF HL-3-2143SA (1 x 400 анализов). Каждый флакон содержит CDT Buffer (буфер ТДУ) в количестве, достаточном для 400 анализов. Буфер готов к применению, и его следует помещать в соответствующее место на инструменте Helena V8 согласно инструкции в руководстве пользователя.
2. CDT Sample Diluent - раствор для разведения образца ТДУ, REF HL-3-2144SA (2 x 20 мл). Каждый комплект содержит CDT Sample Diluent (раствор для разведения образца ТДУ) в количестве, достаточном для 400 анализов. Буфер готов к применению, и его следует помещать в соответствующее место на инструменте Helena V8 согласно инструкции в руководстве пользователя.
3. CDT Sample Preparation Solution - раствор для приготовления образца ТДУ, REF HL-3-2145SA (1 x 20 мл). Каждый комплект содержит CDT Sample Preparation Solution (раствор для приготовления образца ТДУ) в количестве, достаточном для 400 анализов. Буфер готов к применению.
4. Фильтр, REF HL-3-2130SA (x1). Фильтр следует устанавливать на входную трубку переходника для флакона с CDT Buffer (буфером ТДУ) инструмента Helena V8 согласно инструкции в руководстве пользователя. Фильтр предназначен для однократного использования, и при замене CDT Buffer (буфера ТДУ) его тоже следует заменять.
5. Стаканчики для образцов, REF HL-3-2134SA (4 x 36). Стаканчики для образцов следует устанавливать на инструменте Helena V8 согласно руководству пользователя.
6. Прочие компоненты комплекта. В каждом комплекте имеется инструкция по применению.

ХРАНЕНИЕ И СРОК ГОДНОСТИ

1. CDT Buffer - буфер ТДУ. CDT Buffer (буфер ТДУ) следует хранить при 15-30°C; он стабилен до истечения срока годности, указанного на этикетке. Открытые флаконы, установленные на инструменте Helena V8, стабильны в течение 6 месяцев при 15-30°C.
2. CDT Sample Diluent - раствор для разведения образца ТДУ. CDT Sample Diluent (раствор для разведения образца ТДУ) следует хранить при 15-30°C; он стабилен до истечения срока годности, указанного на этикетке. Открытые флаконы, установленные на инструменте Helena V8, стабильны в течение 3 месяцев при 15-30°C.
3. CDT Sample Preparation Solution - раствор для приготовления образца ТДУ. CDT Sample Preparation Solution (раствор для приготовления образца ТДУ) следует хранить при 15-30°C; он стабилен до истечения срока годности, указанного на этикетке. Открытые флаконы, установленные на инструменте Helena V8, стабильны в течение 6 месяцев при 15-30°C.

НЕОБХОДИМЫЕ КОМПОНЕНТЫ, НЕ ВКЛЮЧЕННЫЕ В КОМПЛЕКТ ПОСТАВКИ

ОТБОР И ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦОВ

Оптимальный образец — свежая сыворотка. Образцы можно хранить в холодильнике при 2-6°C сроком до 3 суток или -20°C — до 2 недель.

Насыщение железа в образце:

К 1 мл сыворотки добавьте 50 мкл CDT Sample Preparation Solution (раствора для приготовления образца ТДУ). Тщательно перемешайте и инкубируйте в течение 15-30 минут при комнатной температуре (15-30°C). Перемешайте образцы с помощью вихревой мешалки и поместите в подставку для образцов V8.

ПОСТАПНАЯ ПРОЦЕДУРА

1. Убедитесь, что имеется выдвижной ящик для емкости для отходов, и он пуст.
2. До переключения на V8 убедитесь, что имеются буфер для хранения, буфер для поддержания, капиллярный ополаскиватель и одноразовые стаканчики, и они находятся в соответствующих положениях. Установка всех расходных компонентов описана в руководстве пользователя.
3. Переключитесь на инструмент Helena V8, как описано в руководстве пользователя.
4. При заполнении V8 запустите Platinum 4V и начните новый сеанс КЭ. В Platinum 4V выберите 'CE SYSTEM' (СИСТЕМА КЭ) из выпадающего меню, нажмите на 'DEFAULT METHOD' (МЕТОД ПО УМОЛЧАНИЮ) и выберите V8 CDT (V8 ТДУ) в качестве анализа по умолчанию. Выбор определенных анализов описан в руководстве пользователя.
5. Вставьте флакон с V-CE CDT buffer (буфером ТДУ V-КЭ) в отделение для флаконов с жидкостями на инструменте Helena V8 и убедитесь, что он находится в правильном положении. Чтобы правильно установить флакон с V-CE CDT buffer (буфером ТДУ V-КЭ) прежде чем устанавливать его на инструменте Helena V8, убедитесь, что на входную трубку переходника для флакона с буфером установлен новый фильтр (см. руководство пользователя).
6. После установки флакона с буфером V-CE CDT buffer (ТДУ V-КЭ) автоматически откроется окно 'DEFINE BUFFER' (ОПРЕДЕЛЕНИЕ БУФЕРА) в Platinum 4V. Отсканируйте или введите штрих-код в поле позиции буфера, совпадающий с позицией буфера.
7. Когда V8 будет готов для обработки образцов, на инструменте начнет мигать красный индикатор.
8. Поместите пробирки с первичными образцами в подставку для образцов и убедитесь, что штрих-код четко виден через окошечко в подставке (см. руководство пользователя).
9. Установите подставки для образцов на левую половину транспортной области V8 и закройте крышку, как описано в руководстве пользователя.
10. V8 автоматически начнет анализ всех загруженных образцов, и результаты будут передаваться в Platinum 4V.
11. После анализа и при необходимости запустите режим прекращения работы V8, выключив инструмент, как описано в руководстве пользователя.

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

А то время как существует до 8 изоформ трансферрина в зависимости от числа остатков сиаловой кислоты, связанной с молекулой, у здоровых людей чаще всего встречается тетрасиало-изоформа (~85% всего трансферрина), за которым следуют пенсаиало- (~10%) и трисиало-изоформы (~3%). Молекулы трансферрина, дефицитные по углеводам (ТДУ) (дисиаиало, моносиало и асиало-) обычно присутствуют в количествах меньше 2% от всего трансферрина.

Интерпретировать полученные результаты следует с учетом клинической картины и анамнеза.

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Для верификации всех стадий процедуры анализа ТДУ можно использовать контрольные образцы сыворотки Helena Biosciences CDT Serum Controls (кат. № 803200 и 803300). Соответствующие показатели приведены во вкладыше к упаковке.

ХАРАКТЕРИСТИКИ МЕТОДА

В компании Helena Biosciences определены следующие характеристики, которые можно использовать как справочные. В каждой лаборатории необходимо установить собственные характеристики метода.

0110

Точность:

	Воспроизводимость в пределах одного анализа (n = 30)		Воспроизводимость между анализами (n = 300)		Воспроизводимость между разными партиями (n = 3) (N = 30)	
	Среднее значение (%)	Коэффициент вариации (%)	Среднее значение (%)	Коэффициент вариации (%)	Среднее значение (%)	Коэффициент вариации (%)
Пентасиало-	10	2,1	10	2,1	10	2,1
Тетрасиало-	85	1,8	85	1,8	85	1,8
Трисиало-	3	2,3	3	2,3	3	2,3
Дисиало-	2	1,9	2	1,9	2	1,9

Чувствительность:

Метод V-КЭ ТДУ может выявлять отдельные изоформы трансферрина при концентрациях ____ мкг/мл.

Достоверность:

Сравнение с коммерческим методом определения ТДУ с помощью колоночной хроматографии дало следующий результат:

$$y = 0,9999 + 0,313, r^2 = 0,866$$

ЛИТЕРАТУРА

1. De Jong, G. and van Eijk, H.G., 'Functional Properties of the Carbohydrate Moiety of Human Transferrin', Int. J. Biochem., 1989; 21: 253-263.
2. Giblett, E.R., 'The Plasma Transferrins [Review]', Prog. Med. genet.' 1982; 2: 34-36.
3. van Noort, W.L. and van Eijk H.G., 'Separation of Human Serum and Cerebrospinal Fluid Transferrins in Subfractions by Isoelectric Focusing with Phast System and Quantitations with Vetroscan XL Densitometer' Sci. Tools, 1992; 36: 1-6.
4. Amdt, T. 'Carbohydrate-Deficient Transferrin as a Marker of Chronic Alcohol Abuse: A Critical Review of Preanalysis, Analysis, and Interpretation.' Clin. Chem. 2001; 47:13-27.
5. Bontolotti, F; De Paoli, G; Tagliaro, F. 'Carbohydrate-Deficient Transferrin (CDT) as a Marker of Alcohol Abuse: A Critical Review of Literature'. 2001-2005. J. Chromatogr. B. 2006;841:96-109.
6. Stibler, H. 'Carbohydrate-Deficient Transferrin in Serum: A New Marker of Potentially Harmful Alcohol Consumption Reviewed.' Clin. Chem. 1991;37 (12):2029-37.



142

Шаблон для нанесения 6/12 образцов дл прибора SAS-M1 (SAS-M1 accessory pack 6/12).

ПРИМЕНЕНИЕ

Шаблон для нанесения 6/12 образцов SAS-M1, предназначенные для нанесения образцов на гели агарозы до начала проведения электрофореза. Шаблоны используются только 1 раз. Шаблоны используются только вместе с наборами и аксессуарами для анализатора SAS M1.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Шаблон для нанесения 6/12 образцов SAS-M1 не пригодны для повторного использования и должны быть после использования утилизированы надлежащим образом. Компания Helena Biosciences не несет ответственности за ошибочные результаты, полученные при использовании шаблонов более одного раза.

СОСТАВ

1. Шаблон для нанесения 6/12 образцов SAS-M1

Каждый набор содержит 5 упаковок по 10 шаблонов. Шаблоны выпускаются двух видов: для нанесения 6 и 12 проб.

2. Другие компоненты набора

Каждая набор содержит 3 упаковки по 10 блоттеров A.

УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И СРОК ГОДНОСТИ

Шаблон для нанесения 6/12 образцов SAS-M1 готовы к использованию в упакованном виде. Шаблоны должны храниться при температуре 15 ... 30 ° C и стабильны в этих условиях в течение неопределенного периода времени.

ПОШАГОВАЯ ПРОЦЕДУРА

Информация об использовании шаблонов приведена в инструкциях к реагентам.



Тел. +44 (0)191 482 8440
Факс +44 (0)191 482 8442
Эл. почта info@helena-biosciences.com

www.helena-biosciences.com

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

Helena Biosciences Europe Queensway South,
Team Valley Trading Estate, Gateshead,
Tyne and Wear, NE11 0SD, United Kingdom

Одноразовые ячейки для образцов для приборов SAS-1, SAS-3 (SAS-1, SAS-3 disposable sample cups).

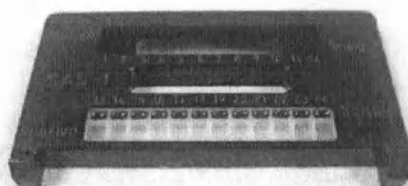
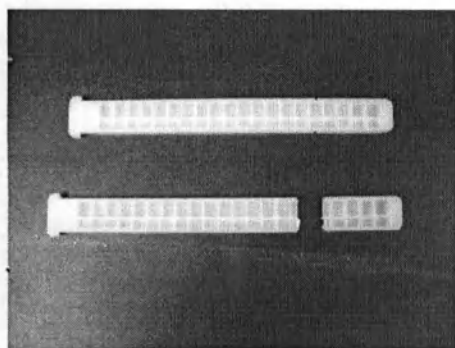
ПРИМЕНЕНИЕ

Одноразовые ячейки для образцов для SAS-1, SAS-3 – являются универсальными и подходят как для оборудования SAS 1, так и для оборудования SAS 3. Ячейки необходимы для нанесения биологического образца на гель с помощью аппликатора. Ячейки для образцов используются только один раз и ТОЛЬКО с оборудованием, реагентами и аксессуарами производства компании Helena. Инструкция по применению приведена в руководстве к анализаторам.

Ячейки для образцов поставляются в пакете по 100 шт., они не имеют ограничений по хранению.

Для использования ячеек на оборудовании SAS 1 или SAS 1plus необходимо отломить (по линии излома) часть ячеек.

Ячейки вставляются в специальные металлические штативы.



Тел. +44 (0)191 482 8440
 Факс +44 (0)191 482 8442
 Эл. почта info@helena-biosciences.com

www.helena-biosciences.com

Helena Biosciences Europe Queensway South,
 Team Valley Trading Estate, Gateshead,
 Tyne and Wear, NE11 0SD, United Kingdom

Сшито и заверено печатью 243
(*Ворошилов Н.А.*)
Ворошилов Н.А.
"Эко-мед-с"