

OLAB IgG

ANTI OXIDISED LOW DENSITY LIPOPROTEIN

ENZYME IMMUNOASSAY FOR THE QUANTITATIVE DETERMINATION OF
HUMAN IgG AUTOANTIBODIES AGAINST OXIDISED LOW DENSITY LIPOPROTEIN IN SERUM
CAT. NO. BI-20032. 12 X 8 TESTS

ENZYMIMMUNOASSAY ZUR QUANTITATIVEN BESTIMMUNG VON
HUMANEN IgG AUTOANTIKÖRPERN GEGEN OXIDIERTES LOW DENSITY LIPOPROTEIN IN SERUM.
KAT. NR. BI-20032. 12 X 8 TESTS

FOR RESEARCH USE ONLY
NOT FOR USE IN DIAGNOSTIC PROCEDURES

rev.no. 220524 (replacing 190107)

This kit was developed and manufactured by:

Biomedica Medizinprodukte GmbH, A-1210 Wien, Divischgasse 4

Tel. +43/1/291 07 45, Fax +43/1/291 07 6389, E-mail info@bmgrp.com



CONTENT / INHALT / CONTENIDO

- 1) ENGLISH 3
- 2) DEUTSCH 7

*Additional information on our products is available on our website.
Zusätzliche Information zu unseren Produkten ist auf unserer Homepage erhältlich.*

www.bmgrp.com

1) INTRODUCTION

Oxidized low density lipoprotein (oLDL) is believed to play a critical role in the development and progression of atherosclerosis. Accumulation of oLDL in macrophages and smooth muscle cells causes foam cell formation, an initial step in the disease. Autoantibodies against oxidatively modified LDL can be used as a parameter that consistently mirrors the occurrence of oxidation processes taking place in vivo. In fact, elevated levels of autoantibodies against oLDL have been detected in the blood stream of patients with coronary artery disease. Moreover, recent studies indicate a correlation between autoantibodies against oLDL and the progression of carotid atherosclerosis. Increased serum concentrations of oLAB have also been described in various diseases such as pre-eclampsia and systemic lupus erythematosus. Decreased oLAB titers were observed during septicemia and myocardial infarction. An overview on the clinical applications of oLAB has been published.

2) CONTENTS OF THE KIT

CONT	KIT COMPONENTS	QUANTITY
PLATE	Oxidised LDL coated microtiterstrips in stripholder packed in alubag with desiccant	12 x 8 tests
ASYBUF	Assay buffer, red cap, ready to use	1 x 60 ml
WASHBUF	Wash buffer concentrate 20x, natural cap	1 x 50 ml
STD	Standards (37, 75, 150, 300, 600, 1,200 mIU/ml oLAB IgG), white caps, ready to use	6 x 500 µl
CTRL	Controls (300, 1,000 mIU/ml), yellow caps, ready to use	2 x 500 µl
CONJ	Conjugate, (monoclonal anti human IgG-HRPO), amber cap, ready to use	1 x 13 ml
SUB	Substrate (TMB solution), blue cap, ready to use	1 x 13 ml
STOP	Stop solution H ₂ SO ₄ , white cap, ready to use	1 x 7 ml

3) ADDITIONAL MATERIAL INCLUDED IN THE KIT

- 2 self-adhesive plastic films
- 1 uncoated microtiter plate for sample dilution
- QC protocol
- Protocol sheet
- Instruction manual for use

4) MATERIAL AND EQUIPMENT REQUIRED BUT NOT SUPPLIED

- Incubator for 37°C
- Precision and multichannel pipettes calibrated to deliver 20 µl, 50 µl, 100 µl, and 200 µl and disposable tips
- ELISA reader for absorbance at 450 nm (or from 450 nm to 630 nm)
- Graph paper or software for calculation of results
- Plate washer is recommended for washing
- Distilled or deionised water

5) REAGENTS AND SAMPLE PREPARATION

All reagents as supplied in the kit are stable at 4°C (2-8°C) until expiry date stated on the label of each reagent.

Samples should be stored at -20°C if not assayed on the same day, long term storage at -70°C. Do not use lipemic or haemolysed samples. Samples should be mixed well before assaying. The test system is not designed for plasma.

WASHBUF (Wash buffer): Dilute the concentrate 1:20 (e.g. 50 ml WASHBUF + 950 ml distilled water). Crystals in the buffer concentrate will dissolve at room temperature. Undiluted WASHBUF is stable at +4°C (2-8°C) until expiry date stated on label. Diluted buffer is stable at +4°C (2-8°C) for one month. Use only diluted WASHBUF for the assay performance.

PREDILUTION:

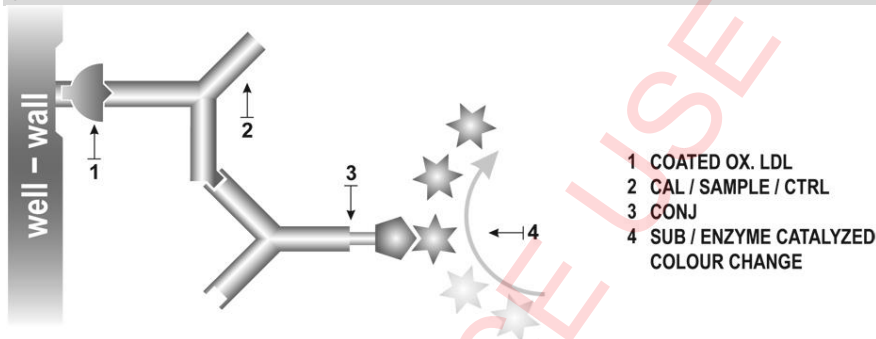
All STD/SAMPLE/CTRL (standard/sample/control) must be used in 1:55 end-dilution (pre-dilution 1:5 + assay-dilution 1:11) in the assay. Use the enclosed uncoated microtiter plate for the 1:5 pre-dilution step.

- Add 200 µl ASYBUF (Assay buffer) into the appropriate wells of the uncoated microtiter plate.
- Add 50 µl STD/SAMPLE/CTRL (standard/sample/control) into the wells, mix well (=1:5 dilution).

Note: Pre-diluted material must be used in the assay within 15 minutes.

Follow chapter 7) ASSAY PROTOCOL!

6) PRINCIPLE OF THE ASSAY



7) ASSAY PROTOCOL

All reagents and samples must be at room temperature (18-24°C) before use in the assay.

Mark position for BLANK/STD/SAMPLE/CTRL (Blank/Standard/Sample/Control) on the protocol sheet.

Take microtiter strips out of the alu bag, take a minimum of one well as Blank. Store unused strips with desiccant at +4°C (2-8°C) in the alu bag. Strips are stable until expiry date stated on the label.

Add 200 µl ASYBUF (Assay buffer) into respective wells of the coated microtiter strips, including blank.

Add 20 µl 1:5 pre-diluted STD/SAMPLE/CTRL into each well except blank, swirl gently.

ATTENTION: The transfer of the pre-diluted STD/SAMPLE/CTRL into the coated microtiter strips must be completed within 15 minutes. Use a Multichannel pipette.

Cover tightly and incubate for 1.5 hours at 37°C.

Aspirate and wash wells 4x with 300 µl diluted WASHBUF (Wash buffer). Remove remaining WASHBUF by hitting plate against paper towel after the latest wash.

Add 100 µl CONJ (Conjugate) into each well except blank.

Cover tightly and incubate for 30 minutes at room temperature (18-24°C).

Aspirate and wash wells 4x with 300 µl diluted WASHBUF (Wash buffer), remove remaining WASHBUF by hitting plate against paper towel after the latest wash.

Add 100 µl SUB (Substrate) into each well.

Incubate for 15 min at room temperature (18-24°C) in the dark.

Add 50 µl STOP (Stop solution) into each well.

Measure absorbance immediately at 450 nm with reference 630 nm, if available.

8) CALCULATION OF RESULTS

Subtract the blank extinction from all other values. Construct the standard curve from the standard values. Use commercially available software or graph paper. Obtain sample concentration from this standard curve. Respective dilution factors have to be considered.

If the concentration of oLAB IgG in the sample exceeds 1,100 mU/ml, further dilution and measurement of the diluted sample is recommended.

The quality control protocol supplied with the kit shows the results of the final release QC for each kit. Data for optical density obtained by customers may differ due to various influences and/or due to the normal decrease of signal intensity during shelf life. However, this does not affect validity of results as long as an optical density of 1.00 or higher is obtained for the standard with the highest concentration.

9) ASSAY CHARACTERISTICS

Normal range:	Median: 263 mU/ml (n = 50) Each laboratory has to establish its own reference range for the samples under investigation.
Standard range:	37 to 1,200 mU/ml
Sample volume:	50 µl human serum
Detection Limit:	48 mU/ml (37 mU/ml + 3x SD)
Incubation time:	1.5 h / 30 min / 15 min

10) PRECISION

Intra-Assay (n=8)	Sample 1	Sample 2	Inter-Assay (n=5)	Sample 1	Sample 2
Mean (mU/ml)	119	324	Mean (mU/ml)	139	544
SD (mU/ml)	4	14	SD (mU/ml)	11	22
CV (%)	4	4.3	CV (%)	8	4

11) TECHNICAL HINTS

- Do not mix or substitute reagents with those from other lots or sources.
- Do not mix stoppers and caps from different reagents or use reagents between lots.
- Do not use reagents beyond expiration date.
- Protect reagents from direct sunlight.
- Substrate solution should remain colourless until added to the plate.
- To ensure accurate results, proper adhesion of plate sealers during incubation steps is necessary.
- Avoid foaming when mixing reagents.

12) PRECAUTIONS

All test components of human source were tested against HIV-Ab, HCV-Ab and HBsAg and were found negative. Nevertheless, they should be handled and disposed as if they were infectious.

Liquid reagents contain ≤0.1% Proclin 950 as preservative. Avoid contact with skin and mucous membrane. Proclin 950 is not toxic in concentrations used in this kit. It may cause allergic skin reactions, avoid contact with skin or eyes.

- Do not pipette by mouth.
- Do not eat, drink, smoke or apply cosmetics where reagents are used.
- Avoid all contact with reagents by using gloves.

- Sulfuric acid is irritating to eyes and skin. Flush with water if contact occurs. Avoid contact with skin and mucous. Irritations are possible – Flush with water after contact!

13) LITERATURE

- "Evaluation of the atherogenic tendency of lipids and lipoprotein content and their relationships with oxidant-antioxidant system in patients with psoriasis"
Vanizor Kural B. et al. Clin Chim Acta 2003 Feb;328(1-2):71-82
- "Circulating autoantibodies to oxidized LDL correlate with impaired coronary endothelial function after cardiac transplantation"
Fang JC et al. Arterioscler Thromb Vasc Biol 2002 Dec 1;22(12):2044-8
- "Autoantibodies to malondialdehyde-modified low-density lipoprotein in patients with angiographically confirmed coronary artery disease"
McDowell A. et al. J Pharm Pharmacol 2002 Dec;54(12):1651-7

1) EINLEITUNG

Oxidiertes Low Density Lipoprotein (oLDL) ist offenbar ein wichtiger Faktor bei der Entstehung und Entwicklung von Atherosklerose. In Makrophagen und glatten Muskelzellen akkumuliert oLDL und bewirkt dadurch die Entstehung von Schaumzellen, die Grundlage für die Entstehung der Krankheit. Neue Untersuchungen zeigen, dass die Konzentration von Autoantikörpern gegen oxidativ verändertes LDL die ablaufenden Oxidationsprozesse widerspiegelt. Hohe Konzentrationen von Autoantikörpern gegen oLDL wurden im Serum von Patienten mit Herzkranzgefäßerkrankungen gemessen. Außerdem zeigen aktuelle Studien eine Korrelation zwischen Autoantikörpern gegen oLDL und fortschreitender Karotid-Atherosklerose. Erhöhte Serumkonzentrationen an oLAB wurden auch bei verschiedenen anderen Erkrankungen wie Präeklampsie und systemischem Lupus erythematodes beschrieben. Niedrige Werte wurden bei akutem Herzinfarkt und Sepsis beobachtet.

Ein Überblick über die klinische Wertigkeit von oLAB wurde veröffentlicht.

2) INHALT DES KITS

CONT	KIT KOMPONENTEN	MENGE
PLATE	Oxidiertes LDL, beschichtet auf Mikrotiterplattenstreifen im Streifenhalter. Verpackt im Alu Säckchen mit Trockenmittel	12 x 8 Teste
ASYBUF	Verdünnungspuffer, rote Kappe, gebrauchsfertig	1 x 60 ml
WASHBUF	Waschpuffer, 20fach Konzentrat, durchsichtige Kappe	1 x 50 ml
STD	Standards (37, 75, 150, 300, 600, 1.200 mU/ml oLAB IgG), weiße Kappen, gebrauchsfertig	6 x 500 µl
CTRL	Kontrollen (300, 1.000 mU/ml), gelbe Kappen, gebrauchsfertig	2 x 500 µl
CONJ	Konjugat (monoklonal anti human IgG-HRPO), braune Kappe, gebrauchsfertig	1 x 13 ml
SUB	Substrat (TMB Lösung), blaue Kappe, gebrauchsfertig	1 x 13 ml
STOP	Stopp Lösung H ₂ SO ₄ , weiße Kappe, gebrauchsfertig	1 x 7 ml

3) ZUSÄTZLICHES MATERIAL IM KIT

- 2 selbstklebende Abdeckfolien
- 1 unbeschichtete Mikrotiterplatte zur Vorverdünnung
- Arbeitsanleitung (Beipacktext)
- QC Protokoll
- Protokoll Blatt

4) ZUSÄTZLICH BENÖTIGTES MATERIAL UND GERÄTE

- Inkubator für 37°C
- Kalibrierte Präzisionspipetten bzw. Mehrkanalpipette für 20 µl, 50 µl, 100 µl und 200 µl, inkl. Pipettenspitzen
- Mikrotiterplattenphotometer mit 450 nm Filter (630 nm Referenz)
- Millimeterpapier oder Software
- Mikrotiterplatten Wascher wird empfohlen
- Destilliertes oder deionisiertes Wasser

5) REAGENZIEN UND PROBENVORBEREITUNG

Alle gebrauchsfertigen Reagenzien des Kits sind bei 4°C (2-8°C) bis zum Ablaufdatum (siehe Etikett des Reagenz) haltbar.

Proben müssen bei -20°C gelagert werden, falls sie nicht am gleichen Tag getestet werden. Für eine Langzeitlagerung empfehlen wir -70°C. Lipämische und hämolytische Proben können falsche Ergebnisse liefern und dürfen nicht verwendet werden. Proben vor Verwendung gut mischen. Humane Plasma Proben dürfen nicht verwendet werden.

WASHBUF (Waschpuffer): Das mitgelieferte Konzentrat wird 1:20 verdünnt (zB. 50 ml WASHBUF + 950 ml destilliertes Wasser). Kristalle im Pufferkonzentrat lösen sich bei Raumtemperatur auf. Unverdünnter WASHBUF ist bei +4°C (2-8°C) bis zum Ablaufdatum haltbar. Der verdünnte WASHBUF ist bei +4°C (2-8°C) bis zu einem Monat haltbar. Im Testsystem darf nur verdünnter WASHBUF verwendet werden.

VORVERDÜNNUNG:

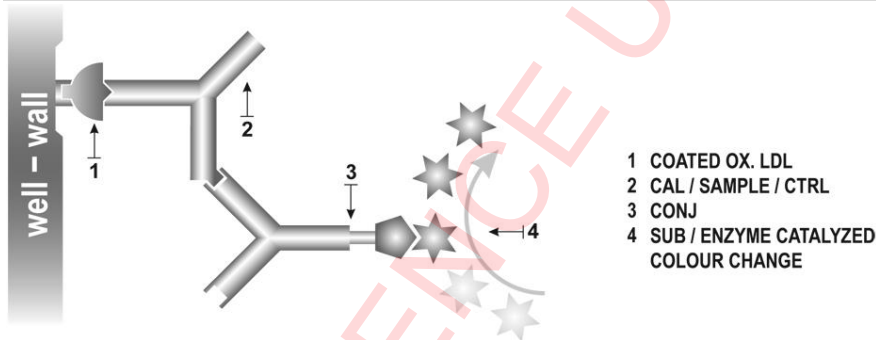
Alle STD/SAMPLE/CTRL (Standard/Proben/Kontrolle) müssen im Test 1:55 (Vorverdünnung 1:5 + Testverdünnung 1:11) endverdünnt werden. Verwenden Sie die unbeschichtete Mikrotiterplatte für den 1:5 Vorverdünnungsschritt. Gehen Sie wie folgt vor:

- Pipettieren Sie 200 µl ASYBUF (Verdünnungspuffer) in die vorgesehenen Wells der unbeschichteten Mikrotiterplatte.
- Pipettieren Sie 50 µl STD/SAMPLE/CTRL (Standard/Proben/Kontrollen) in die Wells, gut mischen.

Achtung: Verwenden Sie vorverdünnte Proben innerhalb von 15 Minuten.

Für den weiteren Testansatz folgen Sie Kapitel 7) TESTPROTOKOLL.

6) TESTPRINZIP



7) TESTPROTOKOLL

Im Test dürfen nur Reagenzien und Proben verwendet werden, welche Raumtemperatur (18-24°C) aufweisen.

Markieren Sie die Positionen für BLANK/STD/PROBE/CTRL (Leerwert/Standard/Probe/Kontrolle) am Protokollblatt.

Nehmen Sie die benötigten Mikrotiterstreifen aus dem Alu Beutel. Mindestens 1 Well für den Leerwert reservieren.

Nicht verwendete Mikrotiterstreifen können mit Trockenmittel im Alu Beutel bis zum angegebenen Ablaufdatum gelagert werden.

Pipettieren Sie 200 µl ASYBUF (Verdünnungspuffer) in die entsprechenden Wells der beschichteten Mikrotiterstreifen, inklusive Leerwert.

Pipettieren Sie 20 µl 1:5 vorverdünnte STD /SAMPLE/CTRL (Standard/Probe/Kontrolle) in die vorgesehenen Wells der beschichteten Mikrotiterstreifen, gut mischen.

ACHTUNG: Dieser Schritt muss innerhalb von 15 Minuten ab der Vorverdünnung abgeschlossen sein. Verwenden Sie eine Mehrkanalpipette.

Streifen abdecken und 1,5 Stunden bei 37°C inkubieren.

Inhalt der Wells verwerfen und 4x mit 300 µl verdünnten WASHBUF (Waschpuffer) waschen.

Nach dem letzten Waschschrift Reste von Waschpuffer durch Ausklopfen auf saugfähigem Papier entfernen.

Pipettieren Sie 100 µl CONJ (Konjugat) in alle Wells mit Ausnahme des Leerwerts.

Streifen abdecken und 30 Minuten bei Raumtemperatur (18-24°C) inkubieren.

Inhalt der Wells verwerfen und 4x mit 300 µl verdünnten WASHBUF (Waschpuffer) waschen.
Nach dem letzten Waschschrift Reste von Waschpuffer durch Ausklopfen auf saugfähigem Papier entfernen.
Pipettieren Sie 100 µl SUB (Substrat) in alle Wells.
15 Minuten bei Raumtemperatur (18-24°C) im Dunkeln inkubieren.
Pipettieren Sie 50 µl STOP (Stopplösung) in alle Wells.
Extinktion unmittelbar bei 450 nm messen, mit 630 nm als Referenz, falls möglich.

8) BERECHNUNG DER ERGEBNISSE

Die OD des Leerwertes ist von allen Wells abzuziehen. Konstruieren Sie eine Standardkurve aus den Werten der Standards unter Verwendung von kommerziell erhältlichem Millimeterpapier oder einer geeigneten Software. Die Konzentration der Proben wird aus der Standardkurve abgelesen. Eventuell verwendete Verdünnungen müssen berücksichtigt werden.

Übersteigt die oLAB IgG Konzentration der Probe 1.100 mU/ml, empfehlen wir weitere Verdünnungsschritte mit anschließender neuerlicher Austestung.

Im beige-packten QC Protokoll sind die Resultate bei der QC Freigabe der jeweiligen Kit Lot vermerkt. Vom Verwender erhaltene Daten der optischen Dichte (OD) können abweichend sein, bedingt durch verschiedene Einflüsse und/oder dem normalen Signalverlust des Kits während der Laufzeit. Dieser mögliche Signalverlust hat keinen Einfluss auf die Gültigkeit der Resultate, so lange die OD des höchsten Standards den Wert 1,00 oder höher erreicht.

9) TESTMERKMALE

Normalwerte:	Median: 263 mU/ml (n = 50) Jeder Verwender sollte den Normalbereich seiner Proben evaluieren.
Standardbereich:	37 bis 1.200 mU/ml
Probenvolumen:	50 µl humanes Serum
Detektionsgrenze:	48 mU/ml (37 mU/ml + 3x SD)
Inkubationszeiten:	1,5 h / 30 min / 15 min

10) PRÄZISION

Intra-Assay (n=8)	Probe 1	Probe 2	Inter-Assay (n=5)	Probe 1	Probe 2
Durchschnitt (mU/ml)	119	324	Durchschnitt (mU/ml)	139	544
SD (mU/ml)	4	14	SD (mU/ml)	11	22
VK (%)	4	4	VK (%)	8	4

11) TECHNISCHE MERKMALE

- Reagenzien von verschiedenen Lots oder Testen dürfen nicht gemischt werden.
- Stöpsel oder Verschlüsse von verschiedenen Reagenzien dürfen nicht vertauscht werden.
- Abgelaufene Reagenzien dürfen nicht verwendet werden.
- Reagenzien sind vor direktem Sonnenlicht zu schützen.
- Substratlösung muss vor Verwendung farblos sein.
- Mikrotiterstreifen müssen während der Inkubationen mit Abdeckfolie abgedeckt sein.
- Vermeiden Sie Schaumbildung beim Mischen der Reagenzien.

12) VORSICHTSMASSNAHMEN

Alle Bestandteile humanen Ursprunges wurden auf HIV-Ak, HCV-Ak und HBsAg getestet und negativ gefunden. Trotzdem sollten die Reagenzien als potentiell infektiös behandelt werden.

Die flüssigen Reagenzien enthalten $\leq 0,1\%$ Proclin 950 als Konservierungsmittel. Vermeiden Sie Kontakt mit Augen, Haut und Schleimhaut. Proclin 950 ist in der verwendeten Konzentration nicht toxisch. Allergische Reaktionen sind möglich.

- Nicht mit dem Mund pipetieren.
- Nicht Rauchen, Essen, Trinken oder Kosmetika benutzen während der Verwendung der Testreagenzien.
- Verwenden Sie Handschuhe zur Vermeidung jedes Kontaktes mit Reagenzien.
- Schwefelsäure reizt Augen und Haut. Bei Berührung gründlich mit Wasser spülen.

13) LITERATUR

- "Evaluation of the atherogenic tendency of lipids and lipoprotein content and their relationships with oxidant-antioxidant system in patients with psoriasis"
Vanizor Kural B et al. Clin Chim Acta 2003 Feb;328(1-2):71-82
- "Circulating autoantibodies to oxidized LDL correlate with impaired coronary endothelial function after cardiac transplantation"
Fang JC et al. Arterioscler Thromb Vasc Biol 2002 Dec 1;22(12):2044-8
- "Autoantibodies to malondialdehyde-modified low-density lipoprotein in patients with angiographically confirmed coronary artery disease"
McDowell A. et al. J Pharm Pharmacol 2002 Dec;54(12):1651-7

SYMBOLS



Expiry date / Verfallsdatum / Date de péremption / Data di scadenza / Fecha de caducidad / Data de validade / Uiterste gebruiksdatum / Udløbsdato / Utgångsdatum / Termin Ważności / Lejárati idő / Doba expirácie / Doba expirace



Consider instructions for use / Bitte Gebrauchsanweisung beachten / Consultez la notice d'utilisation / Consultare le istruzioni per l'uso / Consulte las instrucciones de utilización / Consulte as instruções de utilização / Raadpleeg de gebruiksaanwijzing / Se brugsanvisningen / Läs anvisningarna före användning / Proszę przeczytać instrukcję wykonania / Vegyük figyelembe a használati utasításban foglaltakat / Postupujte podľa pokynov na použitie / Postupujte dle návodu k použití



In vitro Diagnostic Medical Device (for in Vitro Diagnostic Use) / In vitro Diagnostikum (zur In-vitro-Diagnostik) / Dispositif médical de diagnostic in vitro (Pour usage diagnostique in vitro) / Dispositivo medico per diagnostica in vitro (per uso diagnostico in vitro) / Dispositivo médico de diagnóstico in vitro (para uso diagnóstico in vitro) / Dispositivo médico para diagnóstico in vitro (Para utilização de diagnóstico "in vitro") / Medisch hulpmiddel voor diagnostiek in vitro (Voor diagnostisch gebruik in vitro) / Medicinsk udstyr til in vitro-diagnostik (Udelukkende til in vitro diagnostisk anvendelse) / Medicinteknisk produkt avsedd för in vitro-diagnostik (För in vitro-diagnostiskt bruk) / Wyrób medyczny do Diagnostyki In Vitro / In vitro orvosi diagnosztikai termék / In vitro diagnostický zdravotnický materiál (určené pre diagnostiku „in vitro“) / In vitro diagnostický zdravotnický materiál (určeno pro diagnostiku „in vitro“)



Lot-Batch Number / Charge-Chargennummer / Lot-Code du lot / Lotto-Numero di lotto / Lote-Código de lote / Lote-Código do lote / Lot-Partijnummer / Lot-Batchkode / Lot-Satskod / Numer serii / Lot-Batch szám / Číslo šarže / Číslo šarže



Manufactured by / Hergestellt von / Fabriqué par / Prodotto da / Fabricado por / Fabricado por / Vervaardigd door / Fabrikation af / Tillverkad av / Wyprodukowane pr / Gyártotta / Vyrobené / Vyrobeno



Catalogue Number / Bestellnummer / Numéro de référence / Numero di riferimento / Número de referencia / Número de referência / Referentienummer / Referencenummer / Katalognummer / Numer katalogowy / Katalógusszám / Katalógové číslo / Katalogové číslo



Store at between / Lagerung bei zwischen / Conserver à entre / Conservare a tra / Conservar a temp. entre / Armazene a entre / Bewaar bij tussen / Opbevares mellem / Förvaras vid / Przechowywać w / Tároljuk között / Skladujcie w rozsahu / Skladujcie w rozmezí



Contains sufficient for x tests / Inhalt ausreichend für x Tests / Contient suffisant pour x tests / Contenuto sufficiente per x test / Contiene suficiente para x pruebas / Contém suficiente para x testes / Bevat voldoende voor x bepalingen / Indeholder tilstrækkeligt til x prøver / Innehållet räcker till x analyser / Zawartość na x testów / Tartalma X teszt elvégzésére elegendő / Obsahuje materiál pre x testov / Obsahuje materiál pro x testů

BI-20032 OLAB IgG

ASSAY PROTOCOL AND CHECKLIST

- ☐ Bring all reagents to room temperature (18-24°C).
- ☐ Prepare reagents and samples as instructed.
- ☐ Bring unused and prepared components to the storage temperature mentioned in the package insert.
- ☐ Take coated microtiter strips out of the alu bag and mark positions on the protocol sheet.
- ☐ Add 200 µl ASYBUF (Assay buffer) into each well of the coated microtiterstrips.
- ☐ Add 20 µl 1:5 prediluted STD/SAMPLE/CTRL into each well except blank, swirl gently. Use a multichannel pipette. This step must be completed within 15 minutes from the predilution.
- ☐ **Cover tightly and incubate for 90 minutes at 37°C.**
- ☐ Aspirate and wash wells with 300 µl WASHBUF (Wash buffer) four times. Remove remaining buffer by hitting plate against paper towel.
- ☐ Add 100 µl CONJ (Conjugate) into each well except blank.
- ☐ **Cover tightly and incubate for 30 minutes at room temperature (18-24°C).**
- ☐ Aspirate and wash wells with 300 µl WASHBUF (Wash buffer) four times. Remove remaining buffer by hitting plate against paper towel.
- ☐ Add 100 µl SUB (Substrate) into each well.
- ☐ **Incubate for 15 minutes at room temperature (18-24°C), in the dark.**
- ☐ Add 50 µl STOP (Stop solution) into each well.
- ☐ Read Optical Density at 450 nm with reference 630 nm, if available.