

Verwendungszweck

Der Chemokin Rezeptor CXCR3 ist ein G_{ai} Protein-gekoppelter Rezeptor der CXC Chemokin Rezeptor Familie.

Weitere Namen für den CXCR3 Rezeptor sind G-Protein-gekoppelter Rezeptor 9 (GPR9) oder CD183.

Das Auftreten von Autoantikörpern gegen den CXCR-3-Rezeptor korreliert mit dem Auftreten und Verlauf der Arteriosklerose und pathologischen Veränderungen des Immunsystems.

Der CellTrend anti-CXCR-3-Antikörper-EIA ermöglicht die Bestimmung von Antikörpern (IgG) gegen den CXCR-3 im Serum.

Testprinzip

Der CellTrend anti-CXCR-3-Antikörper-EIA ist ein Antikörper-Suchtest. An der Mikrotiterplatte sind CXCR-3 gebunden. Während der Inkubation werden die in den Proben vorhandenen anti-CXCR-3-Antikörper an der Platte immobilisiert. Der Nachweis der gebundenen Antikörper erfolgt mit einem anti-human-IgG-Sekundärantikörper, der mit Peroxidase markiert ist. In der folgenden enzymatischen Substratreaktion bildet sich ein farbiges Produkt, dessen Farbintensität proportional der Konzentration und/oder Avidität der anti-CXCR3-Antikörper ist.

Wichtige Hinweise

Testkit bei 2-8 °C lagern.

Nur zur in-vitro Bestimmung.

Die Reagenzien nach dem Verfalldatum nicht mehr benutzen. Das Verfalldatum ist auf der Verpackung angegeben.

Vor Gebrauch diese Gebrauchsinformation sorgfältig durchlesen.

Die Testdurchführung muss durch ausgebildetes Fachpersonal erfolgen.

Lipämische, ikterische, hämolytische oder bakteriell verunreinigte Proben können zu unzuverlässigen Testergebnissen führen.

Nur Reagenzien einer Charge verwenden.

Die Reagenzien enthalten Konservierungsmittel, daher Berührung mit der Haut oder Schleimhaut vermeiden.

Die Standardmaterialien dieses Tests bestehen aus einem monoklonalen Antikörper. Die Kontrolle wurde aus menschlichen Seren hergestellt, die auf Hepatitis B-Oberflächen Antigen (HB_sAg), Anti-HCV- und Anti-HIV 1/2-Antikörper getestet wurden und negativ waren. Trotzdem sollten alle Reagenzien und Proben als potentiell infektiös angesehen werden. Die Vorsichtsmaßnahmen zum Umgang mit infektiösem Material sind unbedingt einzuhalten.

Die Stopplösung **SOLN|STOP** enthält Schwefelsäure. Bei Berührung mit der Haut sofort mit viel Wasser abwaschen. Bei Kontakt mit den Augen sofort mit viel Wasser spülen und einen Arzt aufsuchen.

Zusätzlich erforderliche Chemikalien und Geräte

destilliertes oder deionisiertes Wasser

Meßzylinder

Mikropipetten (Mehrkanalpipette, Multipipette)

Wirbelmischer (Vortex)

Schüttler für Mikrotiterplatten

Mikrotiterplatten-Photometer mit optischem Filter für 450 nm Wellenlänge

Vorbereitung der Reagenzien und Proben

- Vor Testbeginn alle Komponenten auf Raumtemperatur bringen, evtl. auskristallisierte Salze der Pufferkonzentrate in Lösung bringen.

- Die Kavitäten der Mikrotiter-Module **MTP** können durch Abbrechen genau dem Bedarf

angepaßt werden. Nicht benutzte Module sind zusammen mit dem Trockenbeutel in der wiederverschließbaren Originalverpackung stets gut verschlossen bei 2-8 °C zu lagern.

- Das **Waschpuffer-Konzentrat** **BUF|WASH|10x** ist vor Gebrauch mit destilliertem Wasser **1:10** zu verdünnen (z. B. 50 ml + 450 ml Wasser). Die gebrauchsfertige Waschlösung ist bei 2-8 °C mindestens 30 Tage haltbar.

- Die **humanen Serumproben** sind **1:100** mit Proben-Verdünnungspuffer **DIL|SPE** zu verdünnen. (z. B. 5 µl Serum + 495 µl Puffer). Die unverdünnten Seren können bei -20 °C aufbewahrt werden.

- Das **Peroxidasekonjugat-Konzentrat** **CONJ|ENZ|100x** ist vor Gebrauch mit Konjugat-Verdünnungspuffer **DIL|CONJ** **1:100** zu verdünnen (z. B. 50 µl + 4950 µl Puffer). Die Konjugatlösung ist stets frisch anzusetzen.

- Die **Standards** **CAL|1-6**, die **Kontrolle** **CONTROL**, der Proben-Verdünnungspuffer **DIL|SPE** und der **Konjugat-Verdünnungspuffer** **DIL|CONJ** sind gebrauchsfertig. Nach Anbruch sind sie bis zum Verfalldatum des Testkits haltbar.

Testdurchführung

Wir empfehlen, alle Werte in Doppelbestimmungen durchzuführen.

1. Eine ausreichende Anzahl Mikrotiter-Module zum Ansatz von Standards, Kontrollen und Proben vorbereiten.
2. Je 100 µl der Serumverdünnungen, der Standardreihe, der Kontrolle und des Verdünnungspuffers (Leerwert) in die jeweiligen Wells pipettieren.
3. 2 Stunden bei 2-8 °C (Kühlschrank) inkubieren, die Wells dabei mit der Klebefolie abdecken.
4. Die Kavitäten durch Ausschlagen entleeren und 3 mal mit je 300 µl Waschpuffer waschen, Pufferreste durch Ausschlagen auf einer saugfähigen Unterlage entfernen.
5. 100 µl der Peroxidasekonjugatlösung in jede Kavität pipettieren.
6. 1 Stunde bei Raumtemperatur abgedeckt (Folie) mit Schütteln inkubieren.
7. Waschen wie bei 4. beschrieben.
8. Jeweils 100 µl TMB-Substratlösung **SUBS|TMB** in die Kavitäten pipettieren.
9. Die Mikrotiterplatte bei Raumtemperatur 20 Minuten im Dunkeln inkubieren.
10. 100 µl Stopplösung **SOLN|STOP** in jedes Well geben.
11. Messung der optischen Dichte im Photometer bei 450 nm (möglichst Messung mit einer Referenzwellenlänge von 620-690 nm).

Die Färbung der Lösung ist mindestens 30 Minuten stabil. In dieser Zeit sollte gemessen werden.

Auswertung

Zur Auswertung dieses Tests ist eine Computer-ELISA-Software zur Kurvenanpassung der Standardpunkte hilfreich. Eine lineare Auftragung der Konzentrationen der Standards (2,5 U/ml, 5 U/ml, 10 U/ml, 20 U/ml, 40 U/ml, 80 U/ml) auf der x-Achse, die lineare Auftragung der Absorption (y-Achse) und eine 4-Parameter-Kurvenanpassung wird empfohlen.

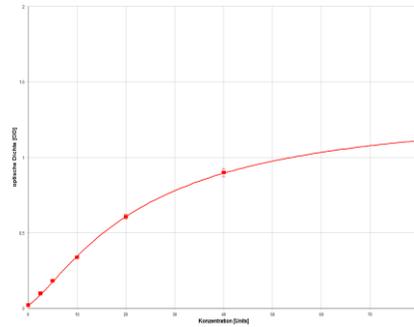
Der Test ist auswertbar, wenn die Kontrolle im angegebenen Bereich liegt (siehe Flaschenetikett).

Der CXCR3-Antikörper-Gehalt der Proben wird aus der Standardkurve abgelesen. Liegen Messwerte oberhalb der Standardkurve, kann in einer nachfolgenden Bestimmung mit einer höheren Probenverdünnung (z. B. 1:500) ein geeigneter Messwert erzielt werden. Das Resultat in U/ml muß dann mit dem zusätzlichen Verdünnungsfaktor (z. B. 5) multipliziert werden.

Proben ≥ 40 U/ml sind positiv, Proben < 40 U/ml sind negativ

Jedes Labor sollte seine eigenen Grenzwerte für die untersuchte Population etablieren.

Testcharakteristik



typische Standardkurve

Diese Standardkurve ist nur zu Demonstrationszwecken abgebildet und darf nicht zur Auswertung verwendet werden.

- Intraassay-Variationskoeffizient
(n=10)

Probe 1 (14.2 U/ml): 4.7%

- Interassay-Variationskoeffizient
(n=20)

Probe 1 (14.8 U/ml): 6.1%

Gebrauchsinformation

**ELISA zur quantitativen Bestimmung von
Anti-CXCR3-Antikörpern in humanem Serum**

REF 12900



Nur für Forschungszwecke

CellTrend GmbH

Im Biotechnologiepark
D-14943 Luckenwalde
Tel.: 03371 / 61 99 600
FAX: 03371 / 61 99 604
Email: info@celltrend.de

