

## Verwendungszweck

Der CellTrend IgG(Hund)-ELISA ermöglicht eine quantitative Bestimmung von IgG des Hundes in komplexen Proben. Durch das immunologische Nachweisverfahren kann IgG auch in Gegenwart anderer Proteine, z. B. anderer Immunglobuline, spezifisch nachgewiesen werden.

## Testprinzip

Die IgG-Bestimmung wird als direkter Sandwich-ELISA durchgeführt. Die Mikrotiterplatte ist mit einem anti-IgG(Hund)-Antikörper beschichtet, an den sich während der ersten Inkubation IgG bindet. Anschließend wird das IgG durch einen Peroxidase-markierten zweiten Antikörper detektiert. Durch eine Farbreaktion wird die Menge an gebundenem Antikörper bestimmt. Die Farbintensität bei 450 nm ist direkt proportional der IgG-Konzentration in der Probe.

## Wichtige Hinweise

Testkit bei 2-8 °C lagern.

Nur für Forschungszwecke.

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.

Nur Reagenzien einer Charge verwenden.

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

## Zusätzlich erforderliche Chemikalien und Geräte

Destilliertes oder deionisiertes Wasser

Meßzylinder

Mikropipetten (Mehrkanalpipette, Multipette)

Wirbelmischer (Vortex)

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 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 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.

- Aus dem Standardkonzentrat wird durch eine 1:2-Verdünnungsreihe mit Verdünnungspuffer (z. B. 250 µl + 250 µl Puffer) die Standardkurve erhalten:

	Herstellung	Konz. ng/ml
Standard 7	Standard-Konz. unverdünnt	1000,000
Standard 6	Std. 7 1:2 verd.	500,000
Standard 5	Std. 6 1:2 verd.	250,000
Standard 4	Std. 5 1:2 verd.	125,000
Standard 3	Std. 4 1:2 verd.	62,500
Standard 2	Std. 3 1:2 verd.	31,250
Standard 1	Std. 2 1:2 verd.	15,625

- Die Proben mit Verdünnungspuffer verdünnen. Der Verdünnungsfaktor richtet sich nach dem vermuteten IgG-Gehalt und sollte so gewählt werden, dass ein Messwert innerhalb der Standardkurve erzielt wird. Normalserum des Hundes enthält ca. 20-30 mg IgG/ml. Um Matrixeffekte auszuschließen, sollten die Proben mindestens 1:50 verdünnt werden.

## Testdurchführung

Wir empfehlen, alle Werte in Doppelbestimmungen durchzuführen.

1. Je 100 µl der Standardreihe, Probenverdünnungen oder Verdünnungspuffer (Negativkontrolle/Blank) in die jeweiligen Wells pipettieren.
2. Bei Raumtemperatur (18-26 °C) 1 Stunde mit Schütteln\* inkubieren, die Wells dabei mit der Klebefolie abdecken.
3. Die Kavitäten durch Ausschlagen entleeren und 3 mal mit je 300 µl Waschpuffer waschen. Pufferreste durch Ausschlagen auf einer saugfähigen Unterlage entfernen.
4. Jeweils 100 µl Peroxidasekonjugatverdünnung in die Kavitäten pipettieren.
5. Bei Raumtemperatur 1 Stunde mit Schütteln\* inkubieren, die Wells dabei mit der Klebefolie abdecken.
6. Waschen wie bei 3. beschrieben.
7. Jeweils 100 µl TMB-Substratlösung in die Kavitäten pipettieren.
8. Mikrotiterplatte bei Raumtemperatur 10 Minuten im Dunkeln inkubieren.
9. 100 µl Stopplösung in jedes Well pipettieren.
10. 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.

\*: Wenn kein MTP-Schüttler zur Verfügung steht, kann auch jeweils 2 Stunden ohne Schütteln inkubiert werden.

## Kompatibilität

Der Verdünnungspuffer in den ELISA-Kits IgG (Hund)  
IgA (Hund)  
IgM (Hund)  
ist identisch. Proben, die mit dem Puffer aus einem dieser Kits verdünnt wurden, können deshalb auch in den anderen Testen eingesetzt werden.

## Auswertung

Zur Auswertung des Tests ist eine Computer-ELISA-Software zur Kurvenanpassung der Standardpunkte hilfreich. Eine logarithmische Auftragung der Konzentrationen der Standards auf der x-Achse, die lineare Auftragung der optischen Dichten (y-Achse) und eine 4-Parameter-Kurvenanpassung wird empfohlen. Daneben ist auch eine manuelle Auswertung auf semi-logarithmischem Papier möglich (lineare Auftragung von optischer Dichte und logarithmischer Auftragung der Konzentration). Die IgG-Konzentrationen werden aus der Standardkurve abgelesen.

Die aus der Standardkurve errechneten Konzentrationen müssen mit dem Verdünnungsfaktor der Probenverdünnung multipliziert werden. Liegen die Meßwerte außerhalb der Standardkurve, kann in einer nachfolgenden Bestimmung mit einer veränderten Probenverdünnung (z. B. 10fach höherer Verdünnungsfaktor bei Meßwerten oberhalb von Standard 7) ein geeigneter Meßwert erzielt werden.

## Bestandteile der Testpackung:

Packungsgröße/Bestellnummer	4x96 Best.
Mikrotiter-Module, Antikörper-beschichtet	4x (12 x 8)
Waschpuffer, 10fach konz. ◆	2x 100 ml
Verdünnungspuffer, gebrauchsfertig ◆	2x 100 ml
Standardkonzentrat ◆	6 ml
Anti-IgG-Ak, Peroxidasekonjugat, gebrauchsfertig	45 ml
TMB-Substrat, gebrauchsfertig	45 ml
Stopplösung, gebrauchsfertig (0,5 M Schwefelsäure)	45 ml

◆ : enthält Thiomersal

## Kurzanleitung:

### A. Vorbereitung

1. Reagenzien auf Raumtemperatur bringen
2. Waschpuffer 1:10 verdünnen
3. Standardreihe aus Standard-Konzentrat in 1:2-Schritten mit Verdünnungspuffer verdünnen
4. Proben mit Verdünnungspuffer verdünnen

### B. Durchführung

1. Je 100 µl verdünnte Probe/Standards/Verdünnungspuffer (Blank) pipettieren
2. 1 h bei Raumtemperatur mit Schütteln inkubieren
3. 3 mal mit je 300 µl Waschpuffer waschen
4. Je 100 µl Peroxidase-Konjugat zugeben
5. 1 h bei Raumtemperatur mit Schütteln inkubieren
6. 3 mal mit je 300 µl Waschpuffer waschen
7. 100 µl Substratlösung pipettieren
8. 10 min bei Raumtemperatur inkubieren
9. 100 µl Stopplösung zugeben
10. Absorption bei 450 nm messen

## Weitere Produkte:

ELISA zur quantitativen Bestimmung von Immunglobulinen verschiedener Spezies (Ratte, Maus, Kaninchen, Huhn)

Entwicklung von ELISA-Kits im Kundenauftrag

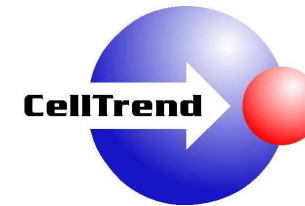
Bestimmung von Kundenproben als Dienstleistung im CellTrend-Labor (auf Anfrage)

Version 01-02/2010

## Gebrauchsinformation

## ELISA zur quantitativen Bestimmung von IgG (Hund)

Bestell-Nr.: Sonderkit



## CellTrend GmbH

Im Biotechnologiepark  
D-14943 Luckenwalde  
Tel.: 03371 / 681 290  
FAX: 03371 / 681 312  
Email: info@CellTrend.de