

CZ

Návod k použití:

sHLA-G ELISA

Katalogové číslo:

RD194070100R

Pouze pro výzkumné účely!

BioVendor – Laboratorní medicína a.s.

Karásek 1767/1, 621 00 Brno, Česká republika

+420 549 124 185

info@biovendor.com

sales@biovendor.com

www.biovendor.com

1.	POUŽITÍ	3
2.	SKLADOVÁNÍ, EXPIRACE	3
3.	ÚVOD	3
4.	PRINCIP STANOVENÍ	4
5.	UPOZORNĚNÍ	4
6.	TECHNICKÁ DOPORUČENÍ	4
7.	SLOŽENÍ SOUPRAVY	5
8.	DOPORUČENÝ MATERIÁL (NEDODÁVANÝ SE SOUPRAVOU)	5
9.	PŘÍPRAVA REAGENCIÍ	6
10.	PŘÍPRAVA VZORKŮ	8
11.	POSTUP STANOVENÍ	9
12.	VYHODNOCENÍ	11
13.	ANALYTICKÁ CHARAKTERISTIKA	12
14.	SROVNÁNÍ S JINOU METODOU	14
15.	ŘEŠENÍ PROBLÉMŮ A NEJČASTĚJI KLADENÉ DOTAZY	15
16.	REFERENCE	16
17.	VYSVĚTLIVKY K SYMBOLŮM	19
18.	PRACOVNÍ POSTUP - SHRNUÍ	20

1. POUŽITÍ

RD194070100R sHLA-G ELISA je enzymoimunoanalytická souprava (sendvičové uspořádání) pro kvantitativní stanovení rozpustných forem lidských leukocytárních antigenů-G (sHLA-G).

Základní charakteristika

- **Pouze pro výzkumné účely**
- Celková doba stanovení je asi 20 hodin
- Souprava měří solubilní HLA-G1 a HLA-G5 v EDTA plasmě, plodové vodě nebo v supernatantu buněčných kultur
- Kalibrátor je lidský nativní protein
- Kapacita soupravy je 96 jamek
- Komponenty dodávané v soupravě jsou přímo k použití, koncentráty nebo lyofilizáty

2. SKLADOVÁNÍ, EXPIRACE

Soupravu skladujte při 2-8°C. Za těchto podmínek jsou všechny komponenty stabilní po dobu expirace (viz datum vyznačené na vnějším obalu).

Stabilita komponent po otevření je uvedena v kapitole 9.

3. ÚVOD

Lidský leukocytární antigen-G (HLA-G) se od ostatních genů MHC třídy I liší svým nízkým stupněm polymorfismu a alternativním sestřihem. Ten generuje sedm HLA-G proteinů, jejichž tkáňová distribuce je omezena na normální fetální tkáň a tkáň dospělých jedinců, které vykazují tolerogenní funkci jak k buňkám vrozené imunitní odpovědi, tak k buňkám imunity získané. Rozpustný HLA-G je imunosupresivní molekula navozující apoptózu aktivovaných CD8 (+) T lymfocytů a down-regulaci buněčné proliferace CD4 (+) T buněk.

V poslední době (s využitím specifických ELISA k analýze přítomnosti molekul sHLA-G v supernatantech kultur raných embryí získaných z in vitro fertilizace (IVF) před přenosem) bylo prokázáno, že jejich pozitivní implantace byla pozorována v případech, kdy tato embrya vylučovala sHLA-G molekuly. Tyto průlomové výsledky naznačují, že sHLA-G ELISA může být užitečnou biochemickou soupravou pro selekci embryí pro IVF přenos v případech, že existují další embrya se stejnou morfologií.

Kromě toho, monitoring sHLA-G v plodové vodě a v plasmě těhotných žen může mít významnou prognostickou hodnotu při rozpoznávání patologických situací.

Další zajímavá pozorování naznačují, že molekuly HLA-G se účastní procesu transplantačního přijetí, proto by jejich analýza měla být brána v úvahu při sledování stavů pacientů po transplantacích. Navíc jsou také plasmatické hladiny rozpustného HLA-G zvýšeny v případech lymfoproliferativních onemocnění nebo u pacientů trpících maligním melanomem, gliomy, rakovinou vaječníků a prsu.

Oblasti výzkumu:

Imunitní odpověď, infekce a zánět

Reprodukce

Transplantace

4. PRINCIP STANOVENÍ

Kalibrátory a vzorky jsou inkubovány na mikrotitrační desce s navázanou monoklonální protilátkou proti sHLA-G. Po 16-20 hodinové inkubaci a důkladném promytí se do jamek přidá monoklonální protilátka proti lidskému β 2-mikroglobulinu značená křenovou peroxidázou (HRP), která se 60 minut inkubuje s vyvázaným sHLA-G. Nenavázaná HRP-značená protilátka se při důkladném promytí vymyje a přidá se roztok substrátu tetrametylbenzidin (TMB). Reakce je zastavena kyselým zastavovacím roztokem a změří se absorbance vzniklého žlutého roztoku. Absorbance je úměrná koncentraci sHLA-G. Koncentrace sHLA-G v neznámých vzorcích se stanoví z kalibrační křivky, která se získá vynesením absorbancí kalibrátorů oproti jejich známé koncentraci.

5. UPOZORNĚNÍ

- **Pouze pro odborné použití**
- Při manipulaci s imunodiagnostickými materiály používejte rukavice a plášť
- Nepijte, nejezte a nekuřte v prostoru, kde se pracuje s imunodiagnostickými materiály
- Souprava obsahuje komponenty zvířecího původu. Je doporučeno s nimi zacházet jako s potenciálně infekčním materiálem
- Vyvarujte se kontaktu s kyselým zastavovacím roztokem a roztokem substrátu (TMB). Při manipulaci s těmito roztoky používejte rukavice a chraňte oči. V případě potřísnění oplachujte postižené místo proudem vody, eventuálně vyhledejte lékařskou pomoc
- Nepipetujte roztoky ústy

6. TECHNICKÁ DOPORUČENÍ

- Nezaměňujte reagenty s odlišnými čísly šarže
- Používejte čisté laboratorní sklo
- Používejte deionizovanou (destilovanou) vodu skladovanou v čistých nádobách
- Zabraňte kontaminaci vzorků a reagentů. Z tohoto důvodu používejte pro každý vzorek i reagenty špičky na jedno použití
- Substrátový roztok by měl být před přidáním do jamek mikrotitrační desky bezbarvý, případně lehce namodralý. Roztok substrátu nevystavujte přímému světlu
- Zastavovací roztok by měl být před přidáním do jamek mikrotitrační desky bezbarvý. Po přidání zastavovacího roztoku dojde v jamkách ke změně barvy z modré na žlutou. Zelené zabarvení signalizuje nedostatečné promíchání roztoků v jamce
- Likvidaci spotřebovaného a nepoužitého materiálu provádějte v souladu s platnou legislativou

7. SLOŽENÍ SOUPRAVY

Složení soupravy	Stav	Množství
Mikrotitrační deska s navázanou protilátkou [Antibody Coated Microtiter Strips]	přímé použití	96 jamek
Roztok konjugátu (100x konc.) [Conjugate Solution Conc. (100x)]	koncentrát	0,13 ml
Zásobní kalibrátor [Master Calibrator]	lyofilizát	2 lahvičky
Ředící roztok konjugátu [Conjugate Diluent]	přímé použití	13 ml
Ředící roztok 1 [Dilution Buffer 1]	přímé použití	20 ml
Ředící roztok 2 [Dilution Buffer 2]	přímé použití	13 ml
Promývací roztok (10x konc.) [Wash Solution Conc. (10x)]	koncentrát	100 ml
Substrátový roztok [Substrate Solution]	přímé použití	13 ml
Zastavovací roztok [Stop Solution]	přímé použití	13 ml

8. DOPORUČENÝ MATERIÁL (NEDODÁVANÝ SE SOUPRAVOU)

- Deionizovaná (destilovaná) voda
- Zkumavky pro ředění roztoků
- Laboratorní sklo (odměrný válec a nádoba na promývací roztok)
- Pipety s přesností 10-1000 μl , jednorázové špičky
- Multikanálová pipeta 100 μl , jednorázové špičky
- Absorpční materiál (např. filtrační papír) pro osušení mikrotitrační desky po promývacím kroku
- Třepačka na zkumavky, vortex
- Orbitální třepačka s volbou rychlosti 300 rpm
- Přístroj na promývání mikrotitračních desek (volitelné). Ruční promývání je možné, ale nedoporučuje se
- Přístroj na měření absorbancí mikrotitračních desek s filtrem 450 ± 10 nm, nejlépe s referenčním filtrem 630 nm (případně jiným z intervalu 550-650 nm)
- Software pro vyhodnocení dat

9. PŘÍPRAVA REAGENCIÍ

Před započítím práce je nutné všechny roztoky a ostatní materiál vytemperovat na laboratorní teplotu.

Připravte si jen přiměřené množství komponent potřebné pro plánovaný test.

Nepoužívejte komponenty po uplynutí doby expirace vyznačené na obalu.

Reagencie dodávané k přímému použití:

Mikrotitrační deska s navázanou protilátkou

Stabilita a skladování:

Pokud nespoteřebujete celou mikrotitrační desku, lze nepoužité stripy vrátit zpět do hliníkové fólie, opatrně zatavit se sušidlem a takto skladovat v suchu při 2-8°C po dobu maximálně 3 měsíců.

Ředící roztok konjugátu

Ředící roztok 1

Ředící roztok 2

Substrátový roztok

Zastavovací roztok

Stabilita a skladování:

Otevřené roztoky jsou stabilní po dobu 3 měsíců při 2-8°C.

Reagencie dodávané jako koncentráty nebo lyofilizáty:

Zásobní kalibrátor sHLA-G

Množství destilované vody potřebné k rekonstituci zásobního kalibrátoru je uvedeno v Certifikátu analýzy dané šarže!!!

Přidejte destilovanou vodu do lahvičky obsahující lyofilizovaný kalibrátor, nechte ho rozpouštět nejméně 15 minut za občasného mírného promíchání (zabraňte pění). Výsledná koncentrace sHLA-G v zásobním roztoku je **625 U/ml**.

Z tohoto zásobního roztoku naředíte kalibrační řadu pomocí ředícího roztoku 1. Příklad ředění (pro duplikáty) je uveden v následující tabulce:

Objem kalibrátoru	Objem ředícího roztoku	Koncentrace
Zásobní roztok	-	625,00 U/ml
100 µl zásobního roztoku	400 µl	125,00 U/ml
250 µl kalibrátoru 125,00 U/ml	250 µl	62,50 U/ml
250 µl kalibrátoru 62,50 U/ml	250 µl	31,25 U/ml
250 µl kalibrátoru 31,25 U/ml	250 µl	15,63 U/ml
250 µl kalibrátoru 15,63 U/ml	250 µl	7,81 U/ml
250 µl kalibrátoru 7,81 U/ml	250 µl	3,91 U/ml

Takto připravené kalibrátory jsou k přímému použití, neředíte je.

Stabilita a skladování:

Neuchovávejte zásobní roztok ani naředěné roztoky kalibrátorů.

Roztok konjugátu (100x konc.)

Připravte pracovní roztok konjugátu přidáním 1 dílu koncentrátu konjugátu (100x) k 99 dílům ředícího roztoku konjugátu. Například: 10 µl koncentrátu konjugátu (100x) + 990 µl ředícího roztoku konjugátu pro použití na jednom stripu (8 jamek).

Stabilita a skladování:

Koncentrát konjugátu (100x) je po otevření stabilní po dobu 3 měsíců při 2-8°C.

Pracovní roztok konjugátu je stabilní po dobu 1 týdne při 2-8°C.

Promývací roztok (10x konc.)

Naředíte koncentrát promývacího roztoku (10x) desetkrát destilovanou (deionizovanou) vodou pro přípravu pracovního roztoku (1x). Např. 100 ml koncentrátu promývacího roztoku (10x) + 900 ml destilované (deionizované) vody pro použití ve všech 96 jamkách.

Stabilita a skladování:

Otevřený koncentrát promývacího roztoku (10x) je stabilní po dobu 3 měsíců při 2-8°C.

Naředěný roztok je stabilní po dobu 1 měsíce při 2-8°C.

10. PŘÍPRAVA VZORKŮ

Souprava měří sHLA-G v EDTA plasmě, plodové vodě nebo v supernatantu buněčných kultur. Vzorky by měly být měřeny ihned po odběru, nebo mohou být uskladněny zmražené. Po rozmražení vzorky důkladně promíchejte. Vyvarujte se opakovaného zmražení a rozmražení vzorků a použití hemolytických nebo lipemických vzorků.

Kit obsahuje dva ředící roztoky. Ředící roztok 1 je shodný s původní verzí ředícího roztoku (až do lotu č. E13-034 / srpna 2013 jediný diluent obsažený v kitu) a je i nadále doporučeným ředícím roztokem pro vzorky plodové vody. Počínaje lotem E13-055 (od září 2013) je součástí kitu ještě Ředící roztok 2, který umožňuje ředit vzorky EDTA plasmy 8x, a tak lépe potlačit potenciální efekty matrice. Tím je dosaženo vyššího signálu a ještě lepších analytických parametrů.

Vzorky EDTA plasmy:

Před použitím nařed'te vzorky 8x Ředícím roztokem 2, např. 15 µl vzorku + 105 µl ředícího roztoku pro měření v singletech nebo lépe 30 µl vzorku + 210 µl ředícího roztoku pro měření v duplikátech. **Pečlivě promíchejte** (zabraňte pění). Doporučujeme vortex.

Vzorky plodové vody:

Před použitím nařed'te vzorky 4x Ředícím roztokem 1, např. 30 µl vzorku + 90 µl ředícího roztoku pro měření v singletech, anebo lépe 60 µl vzorku + 180 µl ředícího roztoku pro měření v duplikátech. **Pečlivě promíchejte** (zabraňte pění). Doporučujeme vortex.

Stabilita a skladování:

Vzorky by měly být skladovány při teplotě -20°C, anebo lépe při teplotě -70°C pro dlouhodobé skladování. Neskladujte naředěné vzorky.

Poznámka: k získání správných výsledků je doporučeno pečlivé ředění vzorků s použitím přesných pipet.

Informace o testování supernatantů buněčných kultur jsou k dispozici na vyžádání na adrese info@biovendor.com.

11. POSTUP STANOVENÍ

1. Napipetujte **100 µl** kalibrátorů, vzorků a ředícího roztoku (=Blank) (doporučujeme duplikáty) do příslušných jamek na mikrotitrační desce. Příklad rozložení na desce viz *Obrázek 1*.
2. **Inkubujte desku při 2-8°C po dobu 16-20 hodin bez třepání.**
3. Promyjte jamky pětkrát promývacím roztokem (0,35 ml každou jamku). Po posledním promytí obraťte desku dnem vzhůru a důkladně vyklepejte zbytky promývacího roztoku do svého materiálu.
4. Přidejte **100 µl** roztoku konjugátu do každé jamky.
5. Inkubujte desku při laboratorní teplotě (cca. 25°C) po dobu **1 hodiny** za současného třepání při 300 rpm na orbitální třepačce.
6. Promyjte jamky pětkrát promývacím roztokem (0,35 ml každou jamku). Po posledním promytí obraťte desku dnem vzhůru a důkladně vyklepejte zbytky promývacího roztoku do svého materiálu.
7. Přidejte **100 µl** substrátového roztoku do každé jamky. Nevystavujte desku přímému dennímu světlu. Doporučuje se zakrytí desky hliníkovou fólií.
8. Inkubujte desku **25 minut** při laboratorní teplotě. (Inkubační doba může být prodloužena až na 30 minut, pokud je reakční teplota < 20°C). Netřepejte!
9. Ukončete vývoj barvení přidáním **100 µl** zastavovacího roztoku.
10. Změřte absorbanci v každé jamce pomocí fotometru nastaveného na 450 nm, nejlépe s nastavením referenční vlnové délky na 630 nm (přijatelné rozmezí: 550 – 650 nm). Odečtěte absorbance při 630 nm (nebo při jiné zvolené vlnové délce z rozmezí 550 – 650 nm) od absorbancí při 450 nm. **Měření by mělo být provedeno do pěti minut po kroku 9.**

Poznámka: Jestliže naměřené absorbance některých vzorků nebo kalibrátorů dosahují hodnot vyšších než je měřicí rozsah přístroje, proveďte další měření při vlnové délce 405 nm. Nová kalibrační křivka sestavená z hodnot naměřených při 405 nm je použita k určení koncentrace sHLA-G ve vzorcích mimo škálu. Měření při 405 nm nenahrazuje měření v rozsahu při 450 nm.

Poznámka2: Ruční promývání: Odsajte obsah jamek a napipetujte do každé jamky 0,35 ml promývacího roztoku. Opět odsajte a postup opakujte čtyřikrát. Po posledním promytí obraťte desku dnem vzhůru a důkladně vyklepněte na filtrační papír tak, aby v jamkách nezůstal žádný promývací roztok.

	strip 1+2	strip 3+4	strip 5+6	strip 7+8	strip 9+10	strip 11+12
A	Kalibrátor 125,00	Vzorek 2	Vzorek 10	Vzorek 18	Vzorek 26	Vzorek 34
B	Kalibrátor 62,50	Vzorek 3	Vzorek 11	Vzorek 19	Vzorek 27	Vzorek 35
C	Kalibrátor 31,25	Vzorek 4	Vzorek 12	Vzorek 20	Vzorek 28	Vzorek 36
D	Kalibrátor 15,63	Vzorek 5	Vzorek 13	Vzorek 21	Vzorek 29	Vzorek 37
E	Kalibrátor 7,81	Vzorek 6	Vzorek 14	Vzorek 22	Vzorek 30	Vzorek 38
F	Kalibrátor 3,91	Vzorek 7	Vzorek 15	Vzorek 23	Vzorek 31	Vzorek 39
G	Blank	Vzorek 8	Vzorek 16	Vzorek 24	Vzorek 32	Vzorek 40
H	Vzorek 1	Vzorek 9	Vzorek 17	Vzorek 25	Vzorek 33	Vzorek 41

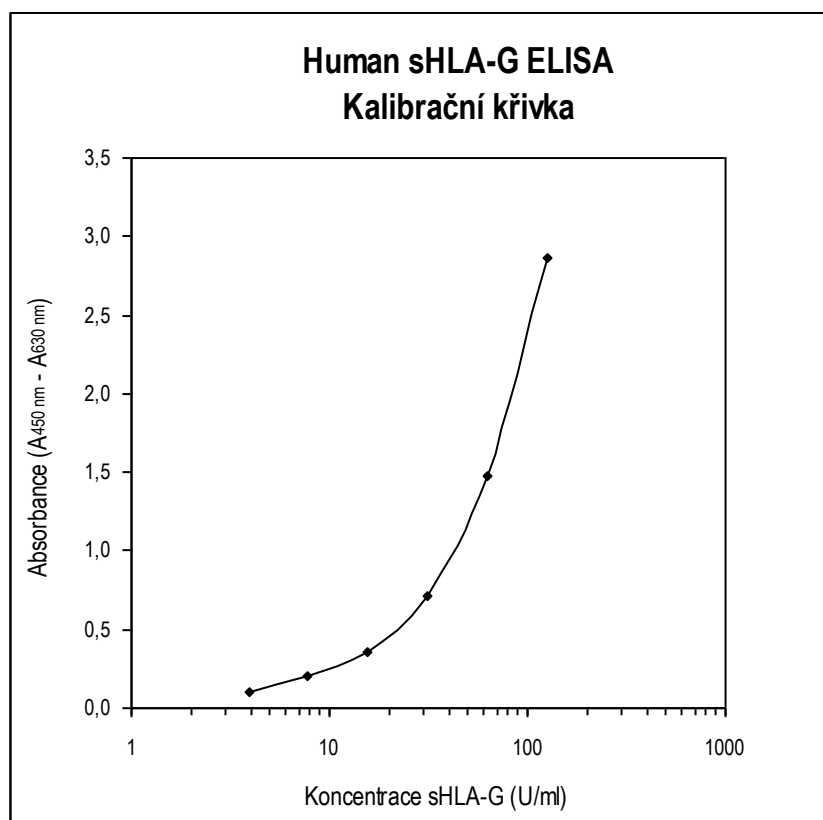
Obrázek 1: Příklad rozložení na desce.

12. VYHODNOCENÍ

Většina přístrojů pro čtení mikrotitračních desek je schopna automatického výpočtu koncentrací ve vzorcích. Kalibrační křivka se sestaví vynesemím hodnot absorbancí kalibrátorů (Y) proti jejich známým koncentracím (X) v logaritmickém měřítku, použitím 4-parametrové funkce. Výsledky se udávají jako koncentrace sHLA-G (v U/ml) ve vzorku.

Jinou možností je použít *logit log* funkce k linearizaci kalibrační křivky, např. *logit* absorbance (Y) proti *log* známých koncentrací kalibrátorů (X).

Naměřenou koncentraci ve vzorcích je nutno násobit příslušným ředícím faktorem, protože vzorky byly před použitím v testu naředěny, např.: 25 U/ml (z kalibrační křivky) x 4 (ředící faktor) = 100 U/ml.



Obrázek 2: Typická kalibrační křivka pro sHLA-G ELISA.

13. ANALYTICKÁ CHARAKTERISTIKA

V této kapitole jsou uvedena charakteristická analytická data sHLA-G ELISA firmy BioVendor.

Citlivost

Limit detekce (LOD, definovaný jako koncentrace analytu, která odpovídá absorbanci o tři standardní odchylky vyšší než je průměrná absorbance blanku*: $A_{blank} + 3 \times SD_{blank}$) je vypočítán ze skutečných hodnot sHLA-G v jamce a je 0,6 U/ml.

* Do jamek pro blank je pipetován ředící roztok.

Omezení

Vzorky s absorbancí převyšující absorbanci nejvyššího standardu by měly být znovu změřeny ve vyšším ředění. Nově získané hodnoty koncentrací vypočtené z kalibrační křivky je pak nutné vynásobit příslušným ředícím faktorem.

Následující výsledky jsou vynásobeny příslušným ředícím faktorem.

Přesnost

Opakované měření ve stejném čase (Intra-assay) (n=8) vzorků EDTA plasmy připravených v Ředícím roztoku 2:

Vzorek	Průměr (U/ml)	SD (U/ml)	CV (%)
1	327,75	16,01	4,9
2	658,77	23,02	3,5

Opakované měření v různých časech (Inter-assay) (n=5) vzorků EDTA plasmy připravených v Ředícím roztoku 2:

Vzorek	Průměr (U/ml)	SD (U/ml)	CV (%)
1	342,31	22,32	6,5
2	909,63	67,39	7,4

Zpětný výtěžek

Do vzorků EDTA plasmy naředěných v Ředicím roztoku 2 bylo přidáno definované množství lidského sHLA-G a poté byla stanovena jeho celková koncentrace.

Vzorek	Nalezeno (U/ml)	Očekáváno (U/ml)	Výtěžek N/O (%)
1	99,22	-	-
	151,19	159,45	94,8
	191,28	216,77	88,2
	275,21	336,80	81,7
2	211,45	-	-
	316,31	329,00	96,1
	430,01	449,03	95,8
	620,35	686,54	90,4

Linearita

Vzorky EDTA plasmy byly sériově ředěny Ředicím roztokem 2 a poté analyzovány.

Vzorek	Ředění	Nalezeno (U/ml)	Očekáváno (U/ml)	Výtěžek N/O (%)
1	-	175,59	-	-
	2x	93,30	87,80	106,3
	4x	44,65	43,90	101,7
2	-	271,78	-	-
	2x	136,16	135,89	100,2
	4x	60,74	67,95	89,4

Stabilita vzorků při 2-8°C

Po 7 dnech skladování při 2-8°C byl ve vzorcích EDTA plasmy zaznamenán pokles koncentrace sHLA-G, proto doporučujeme vzorky skladovat při teplotě -20°C anebo lépe při teplotě -70°C pro dlouhodobé skladování.

Vliv opakovaného zmražení a rozmražení vzorků

Opakované zmražení a rozmražení EDTA plasmy má za následek změny v naměřené koncentraci sHLA-G, proto důrazně doporučujeme, aby se uživatelé vyvarovali opakovaného rozmražení a zmražení vzorků.

Vzorek	Počet cyklů zmražení / rozmražení	EDTA plasma (U/ml)
1	1x	134,64
	3x	233,28
	5x	206,72
2	1x	342,80
	3x	370,24
	5x	436,40
3	1x	625,60
	3x	860,80
	5x	890,80

Referenční rozpětí

Doporučuje se, aby každá laboratoř zahrnula do testu svůj vlastní panel kontrolních vzorků. Každá laboratoř by si měla stanovit své vlastní normální a patologické referenční rozpětí pro hladiny sHLA-G měřené touto soupravou.

14. SROVNÁNÍ S JINOU METODOU

BioVendor sHLA-G ELISA nebyla srovnána s žádnou komerčně dostupnou imunoanalytickou metodou.

15. ŘEŠENÍ PROBLÉMŮ A NEJČASTĚJI KLADENÉ DOTAZY

Slabý signál ve všech jamkách

Možné vysvětlení:

- Vynechání přídavku reagentie nebo kroku v postupu
- Nesprávná příprava nebo skladování reagentů
- Provedení testu dříve, než byly reagentie vytemperovány na pokojovou teplotu
- Absorbance odečtena při nevhodné vlnové délce

Vysoký signál a pozadí ve všech jamkách

Možné vysvětlení:

- Nevhodné nebo nedostatečné promytí
- Příliš dlouhá inkubace se substrátovým roztokem, před přidáním zastavovacího roztoku; nutno zkrátit inkubační čas
- Teplota inkubace nad 30°C

Vysoký koeficient variace (CV)

Možné vysvětlení:

- Nevhodné nebo nedostatečné promytí
- Nesprávné promíchání kalibrátorů nebo vzorků

16. REFERENCE

Reference k sHLA-G:

- Rebman V., Pfeiffer K., Passler M., Ferrone S., Maier S., Weiss E., Grosse-Wilde H.: Detection of soluble HLA-G molecules in plasma and amniotic fluid. *Tissue Antigens*. 1999; 53: 14-22
- Fuzzi B., Rizzo R., Criscuoli L., Noci I., Melchiorri L., Scarselli B., Bencini E., Menicucci A., Baricordi O.R.: HLA-G expression in early embryos is a fundamental prerequisite for the obtainment of pregnancy. *Eur J Immunol*. 2002; 32: 311-315
- Lila N., Amrein C., Guillemain R., Chevalier P., Latremouille C., Fabiani J.N., Dausset J., Carosella E.D., Carpentier A.: Human leukocyte antigen-G expression after heart transplantation is associated with a reduced incidence of rejection. *Circulation*. 2002; 105: 1949-1954
- Steinborn A., Rebmann V., Scharf A., Sohn C., Grosse-Wilde H.: Placental abruption is associated with decreased maternal plasma levels of soluble HLA-G. *J Clin Immunol*. 2003; 23: 307-314
- Le Bouteiller P., Pizzato N., Barakonyi A., Solier C.: HLA-G, pre-eclampsia, immunity and vascular events. *J Reprod Immunol*. 2003; 59: 219-234
- Sher G., Keskinetepe L., Nouriani M., Roussev R., Batzofin J.: Expression of sHLA-G in supernatants of individually cultured 46-h embryos: a potentially valuable indicator of 'embryo competency and IVF outcome. *Reprod Biomed Online*. 2004; 9: 74-78
- Noci I., Fuzzi B., Rizzo R., Melchiorri L., Criscuoli L., Dabizzi S., Biagiotti R., Pellegrini S., Menicucci A., Baricordi O.R.: Embryonic soluble HLA-G as a marker of developmental potential in embryos. *Hum Reprod*. 2005; 20: 138-146
- Yie S.M., Balakier H., Motamedi G., Librach C.L.: Secretion of human leukocyte antigen-G by human embryos is associated with a higher in vitro fertilization pregnancy rate. *Fertil Steril*. 2005; 83: 30-36
- Rebman V., Lemaoult J., Rouas-Friess N., Carosella E.D., Grosse-Wilde H.: Report of the Wet Workshop for Quantification of Soluble HLA-G in Essen, 2004. *Hum Immunol*. 2005; 66: 853-863
- Le Rond S., Azema C., Krawice-Radanne I., Durrbach A., Guettier C., Carosella E.D., Rouas-Freiss N.: Evidence to support the role of HLA-G5 in allograft acceptance through induction of immunosuppressive/ regulatory T cells. *J Immunol*. 2006; 176: 3266-3276
- Luque J., Torres M.I., Aumente M.D., Marin J., Garcia-Jurado G., Gonzalez R., Pascual D., Guerra N., Lopez-Rubio F., Alvarez-Lopez M.R., Arizon J.M., Pena J.: Soluble HLA-G in heart transplantation: their relationship to rejection episodes and immunosuppressive therapy. *Hum Immunol*. 2006; 67: 257-263
- Rudstein-Svetlicky N., Loewenthal R., Horejsi V., Gazit E.: HLA-G levels in serum and plasma. *Tissue Antigens* 2006; 67: 111-116
- Carosella E.D., Favier B., Rouas-Freiss N., Moreau P., Lemaoult J.: Beyond the increasing complexity of the immunomodulatory HLA-G molecule. *Blood*. 2008; 111(10):4862-70
- Apps R., Gardner L., Moffett A.: A critical look at HLA-G. *Trends Immunol*. 2008; 29(7):313-21
- Baricordi O.R., Stignani M., Melchiorri L., Rizzo R.: HLA-G and inflammatory diseases. *Inflamm Allergy Drug Targets*. 2008; 7(2):67-74

Reference k tomuto produktu:

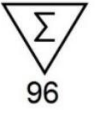
- Wiendl H., Feger U., Mittelbronn M., Jack C., Schreiner B., Stadelmann C., Antel J., Brueck W., Meyermann R., Baror A., Kieseier B.C., Weller M.: Expression of the immune-tolerogenic major histocompatibility molecule HLA-G in multiple sclerosis: implications for CNS immunity. *Brain*. 2005; 128(Pt 11): 2689-2704
- Desai N., Filipovits J., Singh P., Beman M., Goldfarb J.: Assessment of soluble HLA-G levels in day 3 human embryo culture media using a new ELISA kit: Is there a relationship to embryo quality, development and implantation potential? *Fertility & Sterility*. 2005; 84, Suppl 1 (S281-S282)
- Steinborn A., Varkonyi T., Scharf A., Bahlmann F., Klee A., Sohn C.: Early detection of decreased soluble HLA-G levels in the maternal circulation predicts the occurrence of preeclampsia and intrauterine growth retardation during further course of pregnancy. *Am J Reprod Immunol* . 2007; 7(4):277-86
- Tahan F., Patirolu T. Plasma soluble human leukocyte antigen G levels in asthmatic children. *Int Arch Allergy Immunol* . 2006; 141(3):213-6 (2006)
- Desai N., Filipovits J., Goldfarb J.: Secretion of soluble HLA-G by day 3 human embryos associated with higher pregnancy and implantation rates: assay of culture media using a new ELISA kit. *Repro Biomed Online* . 2006; 13(2):272-7
- Coulam C.B., Roussev R.G.: Soluble HLA G concentrations in culture media from in vitro fertilized human embryos are predictive of implantation potential. *American Journal of Reproductive Immunology*. 2005; 53:279-309
- Wang F., Wen Z., Li H., Yang Z., Zhao X., Yao X.: Human leukocyte antigen-G is expressed by the eutopic and ectopic endometrium of adenomyosis. *Fertil Steril*. 2008; 90(5):1599-604
- Shaikly V.R., Morrison I.E., Taranissi M., Noble C.V., Withey A.D., Cherry R.J., Blois S.M. and Fernández N.: Analysis of HLA-G in maternal plasma, follicular fluid, and preimplantation embryos reveal an asymmetric pattern of expression. *J Immunol*. 2008; 180(6):4330-7
- Chen X.Y., Yan W.H., Lin A., Xu H.H., Zhang J.G., Wang X.X.: The 14 bp deletion polymorphisms in HLA-G gene play an important role in the expression of soluble HLA-G in plasma. *Tissue Antigens*. 2008; 72(4):335-41
- Ciprandi G., Colombo B.M., Contini P., Cagnati P., Pistorio A., Puppo F., Murdaca G.: Soluble HLA-G and HLA-A,-B,-C serum levels in patients with allergic rhinitis. *Allergy*. 2008; 63(10):1335-8
- Eidukaite A., Tamosiunas V.: Soluble HLA-G in the peritoneal fluid of women with endometriosis. *Fertil Steril*. 2008; 89(2):465-7
- Le Maux A., Noël G., Birebent B., Grosset J.M., Vu N., De Guibert S., Bernard M., Semana G., Amiot L: Soluble human leucocyte antigen-G molecules in peripheral blood haematopoietic stem cell transplantation: a specific role to prevent acute graft-versus-host disease and a link with regulatory T cells. *Clin Exp Immunol*. 2008; 152(1):50-6
- Giannopoulos K., Schmitt M., Kowal M., Własiuk P., Bojarska-Junak A., Roliński J., Dmoszyńska A.: The significance of soluble HLA-G plasma levels as well as messenger HLA-G for B-cell chronic lymphocytic leukemia (B-CLL). *Leuk Res*. 2008; 32(12):1815-9
- McCormick J., Whitley G.S., Le Bouteiller P., Cartwright J.E.: Soluble HLA-G regulates motility and invasion of the trophoblast-derived cell line SGHPL-4. *Hum Reprod*. 2009; 24(6):1339-45
- Kusanovic J.P., Romero R., Jodicke C., Mazaki-Tovi S., Vaisbuch E., Erez O., Mittal P., Gotsch F., Chaiworapongsa T., Edwin S.S., Pacora P., Hassan S.S.: Amniotic fluid soluble human leukocyte antigen-G in term and preterm parturition, and intra-amniotic infection/inflammation. *J Matern Fetal Neonatal Med*. 2009; 22(12):1151-66
- Roussev R.G., Acacio B., Parrett S., Romineb H., Coulam C.B.: Soluble HLA-G as potential candidate to help morphology grading score in embryo selection for IVF/ET. *Journal of Reproductive Immunology*. 2009; 81, 113–175
- Ivanova-Todorova E., Mourdjeva M., Kyurkchiev D., Bochev I., Stoyanova E., Dimitrov R., Timeva T., Yunakova M., Bukarev D., Shterev A., Tivchev P., Kyurkchiev S.: HLA-G

expression is up-regulated by progesterone in mesenchymal stem cells. Am J Reprod Immunol. 2009; 62(1):25-33

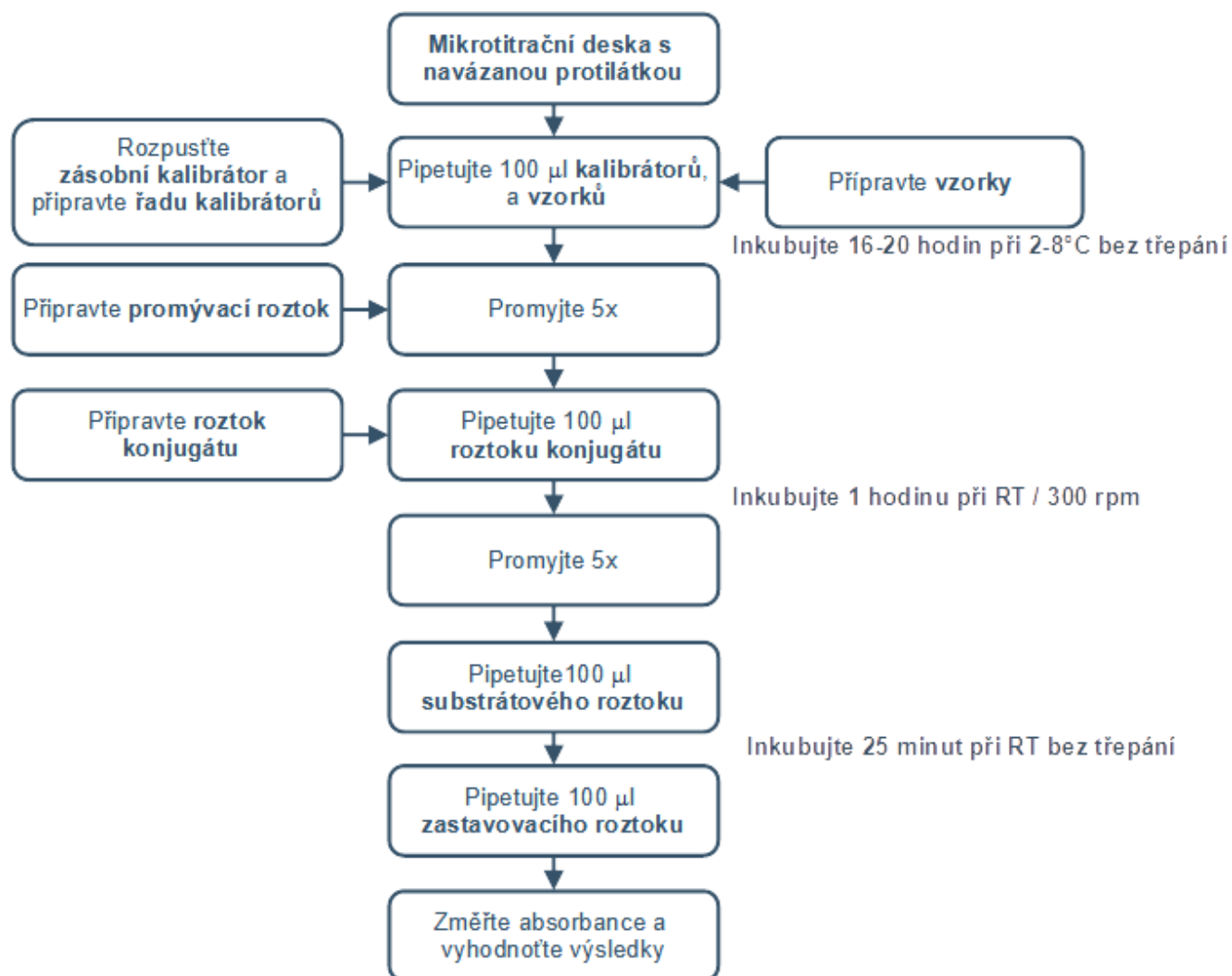
- Mach P., Blecharz P., Basta P., Marianowski P., Skret-Magierlo J., Kojs Z., Grabiec M., Wicherek L.: Differences in the soluble HLA-G blood serum concentration levels in patients with ovarian cancer and ovarian and deep endometriosis. Am J Reprod Immunol. 2010; 63(5):387-95
- Chen C.H., Liao H.T., Chen H.A., Liu C.H., Liang T.H., Wang C.T., Tsai C.Y., Chou C.T.: Human leukocyte antigen-G in ankylosing spondylitis and the response after tumour necrosis factor-alpha blocker therapy. Rheumatology (Oxford). 2010; 49(2):264-70

Pro více referencí k našemu produktu navštivte naše webové stránky www.biovendor.com.

17. VYSVĚTLIVKY K SYMBOLŮM

	Katalogové číslo
	Šarže
	Pozor (výstraha)
	Použit do data
	Omezení teploty
	Výrobce
 www.biovendor.com	Čtěte elektronický návod k použití
	Obsah postačuje pro 96 testů
	Biologická rizika

18. PRACOVNÍ POSTUP - SHRUTÍ



1								
2								
3								
4								
5								
6								
7								
8								
9								
10								
11								
12								
A								
B								
C								
D								
E								
F								
G								
H								



EXBIO Praha, a.s.

Nad Safinou II 341, 252 50 Vestec, Česká republika

info@exbio.cz

technical@exbio.cz

orders@exbio.cz

www.exbio.cz



BioVendor – Laboratorní medicína a.s.

Karásek 1767/1, 621 00 Brno, Česká republika

+420 549 124 185

info@biovendor.com

sales@biovendor.com

www.biovendor.com



FOLLOW US

BIOVENDOR. GROU P