

# 类胰岛素生长因子 1 (IGF-1) 定量酶联免疫检测试剂盒

货号: AC-27F1

## 【产品名称】

通用名称: 类胰岛素生长因子 1 (IGF-1) 定量酶联免疫检测试剂盒

## 【包装规格】

96 人份/盒

## 【预期用途】

试剂盒是双位点免疫酶分析法用来定量检测人类血清或血浆中类胰岛素生长因子, 这个方法合并一个样本预处理的步骤, 以避免结合蛋白的干扰。

## 【简介概述】

类胰岛素生长因子 1 (IGF-1) 是一个有 70 个氨基酸的生物多肽 (7650 道尔顿), 并且是许多出现在循环中的相关类胰岛素生长因子中的一种。其分子显示约有 50% 的序列与胰岛素原的相似并且与胰岛素的一些生物活性相似。该肽高度依赖于生长激素 (GH), 但有越来越多的证据表明它和生长激素的分泌无关。IGF-1 对生长发育的促进有很大影响, 包括促进有丝分裂和促进软骨硫酸化。它也促进生长激素在骨骼和其他体液的作用并协调生长。

几乎所有 (超过 95%) 的循环血清中的 IGF-1 都与特定的 IGF 结合蛋白连接, 现在已经分辨出为 6 个种类 (IGF-BPs 1-6)。BP3 被认为是与 IGF-1 结合的主要蛋白, 与 IGF-1 和酸不稳定性亚单位形成一个 140000 道尔顿的三聚体。

血清 IGF-1 的测量用于有生长病变的小孩和监测和诊断肢端肥大症。IGF-1 的浓度随着年龄、营养状况、身体成份和生长激素分泌而改变。

单个基础的 IGF-1 项目的检测常常用于评估小孩矮身高和急性病的病人营养供应的研究。对于诊断肢端肥大症鉴别, 单一的 IGF-1 诊断比一个任意的 GH 诊断更为可靠。

## 【检验原理】

病人的样本用试剂短暂孵育以阻止结合蛋白质, 然后稀释样本以进行检测。在 OCTEIA®IGF-1 试剂盒中, 一个纯化的多克隆羊抗 IGF-1 抗体包被在聚苯乙烯微量孔的内表面 (固相或抗体捕获)。已预处理的稀释的样本和标上辣根过氧化酶的单克隆抗 IGF-1 抗体在已经有抗体包被的微量孔中室温下孵育 2 小时。微量孔清洗并且加入单一成份的显色底物 (四甲基联苯胺) 产生颜色。终止混合物的反应, 吸光度在微量板读数仪上读取, 颜色的强度与样本中 IGF-1 的数量成正比关系。

## 【主要组成成份】

1. CAL 0-5 - 标准品 ( REF AC-2701A - AC-2701F):

人类血清干粉包含 IGF-1 和 0.09% 的叠氮化钠。在瓶子的标签上已有打印好的每瓶的准确值, 每瓶 0.5 mL, 每盒 6 瓶。

2. MICROPLAT - 抗体包被板 ( REF AC-2702W):

微量板被羊抗 IGF-1 单克隆抗体连接到聚苯乙烯微量孔的内部表面, 8X12 板条孔附干燥剂。

3. ENZYMCNJ - 酶结合物 ( REF AC-2703):

磷酸盐缓冲液包含鼠抗 IGF-1 单克隆抗体, 蛋白, 酶稳定剂和防腐剂。每瓶 22 mL。

4. CTRL 1-2 - 质控品 ( REF AC-2705A - AC-2705B):

人类血清冻干粉包含 IGF-1 和 0.09% 的叠氮化钠。每瓶 0.5 mL, 每盒 2 瓶。

5. H2SO4 - 终止液 ( REF AC-2706):

1M 硫酸, 每瓶 12 mL。

6. RELEASREAG - 释放剂 ( REF AC-2707):

从结合蛋白中分离 IGF-1 的专用试剂。每瓶 21 mL。

7. SUBS - TMB 底物 ( REF AC-SUBS):

专用的液体形式四甲基联苯胺 (TMB) 和过氧化氢, 每瓶 30 mL。

8. SAMPDIL - 样本稀释 ( REF AC-270B):

磷酸盐缓冲液包含防腐剂, 每瓶 50 mL。

9. WASHBUF 20x - 浓缩冲洗缓冲液 ( REF AC-WASHL):

磷酸盐缓冲液包含吐温 (Tween), 每瓶 50 mL。

## 【储存条件及有效期】

如果试剂的保存是有效的, 所有试剂可保存到有效期, 收到试剂后放在 2-8°C 中保存。

复溶的标准品 CAL、质控品 CTRL 在-20° C 可保存 8 星期。

试剂效价可能降低的迹象

1. 在任何一个试剂中有异常微粒子出现。
2. 最高吸光度下降。
3. 正常姿态的曲线倾斜度变化。

#### 【适用仪器】

适用于具有 450nm、650nm 波长的所有全自动、半自动酶标仪。

#### 【样本要求】

分析可使用血清或血浆样本。样本收集之后应该尽快地分离，长期储藏需-20° C，避免样品反复的冻融。

注意：不适当的保存和处理样本会导致样本中 IGF-1 的损耗。

#### 【检验方法】

##### 试剂准备

**标准品 CAL 和质控品 CTRL:** 标准品 CAL 和质控品 CTRL 以冻干品形式提供。每瓶加 0.5 mL 蒸馏或去离子水复溶。将盖子重新盖好在室温下静置 10-15 分钟，反复颠倒几次确保复溶完全。

如果标准品 CAL 或质控品 CTRL 使用超过一次，复溶后的须马上（30 分钟内）冰冻保存（-20° C）。

当再使用冰冻标准品 CAL 或质控品 CTRL 时，再回复至室温，混合后 15 分钟内使用。

**冲洗液:** 每瓶浓缩冲洗液 WASHBUF 20x 加 950 mL 蒸馏或去离子水并且混匀，室温储存。

所有其他试剂直接使用。

所有试剂使用之前应该回复至室温。试剂使用之前重复倒置混合混匀。

##### 需要的但没有提供的材料

1. 可任意使用的 12X75mm 的塑料管。
2. 能精确分配 25  $\mu$ L 和 50  $\mu$ L 的移液器。
3. 可重复分配 100  $\mu$ L 和 1mL 和移液器，如 Eppendorf Multipipette 4780 或类似的。
4. 精确的多道加样器能分配 100  $\mu$ L 和 200  $\mu$ L。
5. 旋涡混合器
6. 全自动洗板机（可选配）。
7. 微量板读数仪和数据处理系统。

##### 操作程序

按“试剂准备”里所描述的那样复溶或准备试剂。

将所需的微量板条装到板条架上。推荐双份检测。将剩下的板条放回原装口袋中并重新封好。不要取更多的板条，这样就能在 30 分钟内处理好。注意！确保在包装内的板条在密封保存期间干燥。

1. 准确有标签的塑料试管，每个标准品 CAL，质控品 CTRL 和样本各一管。
2. 每个每个标准品 CAL，质控品 CTRL 和样本各加 25  $\mu$ L 到相应的试管中。
3. 加 100  $\mu$ L 的释放剂 RELEASREAG 到每个试管中。在 18-25° C 下孵育 10 分钟。
4. 加 1 mL 的样本稀释液 SAMPDIL 到每个试管中。旋涡混合所有试管。样本现在可以用于分析。
5. 加入 50  $\mu$ L 已准确好的每个标准 CAL，质控 CTRL 和样本到相应的抗体包被的微量孔中 MICROPLAT 中，双份检测。  
注意：这些加入必需在 10 分钟内完成，以减少随机误差。
6. 使用多道加样枪加入 200  $\mu$ L 的酶结合物 ENZYMCNJ 到所有微量孔中。在 18-25° C 下孵育 2 小时到 2 小时 15 分之间。
7. 用冲洗液清洗所有微量孔三次：
  - a) 全自动洗板机：设定洗板机每个孔至少 300  $\mu$ L 的冲洗量，加满和吸干进行 3 个循环。
  - b) 手工冲洗：轻轻的颠倒板架使孔内的液体倒出，加入 250  $\mu$ L 的冲洗缓冲液到所有的孔中，倒出并重复二次。在进行下一步操作时，将微量板翻转在滤纸上轻打，以确保吸干微量孔内多余的冲洗液。
8. 用多道加样器在所有微量孔加入 200  $\mu$ L 的 TMB 底物 SUBS，在 18-25° C 下孵育 30 分钟。  
注意：TMB 底物容易受到污染。仅能从瓶子中移出分析所需的用量，不使用的 TMB 底物丢掉，不能再倒回瓶子中。
9. 用多道加样器在所有微量孔加入 100  $\mu$ L 的终止液 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>。
10. 在加入终止液的 30 分钟内使用微孔板读数仪在 405 nm（参考波长为 650 nm）下测量所有孔的吸光度。

##### 校准

该试剂盒已参照类胰岛素生长因子-1 和胰岛素生长因子-1 的国际参考试剂进行校准。

##### 质量控制

质控规则使用的质控样本要求几种水平的分析物，以确保每天的结果在可接受的范围内。提供两盒试剂的质控品。

质控品应作为未知物进行检测。质量控制图应按照测试的结果进行绘画。

**【参考值（参考范围）】**

以下的范围是由OCTEIA®IGF-1的试剂进行测定并且仅提供参考。每个实验室必须建立自己地区人群的范围值。

	年龄（岁 数）	n	μ g/L
正常范围	<1	10	12-108
	1-3	14	13-100
	>3-6	19	26-280
	>6-9	16	85-230
	>9-12	25	98-404
	>12-15	17	142-525
	>15-20	14	146-415
	>20-30	18	89-276
	>30-40	18	22-197
	>40-50	18	49-147
	>50-60	26	35-210
	>60-70	25	30-196
	>70	11	56-191
肢端肥大症患者		10	340-635

注意：所列出的每个类型样本的预期值是绝对的范围——每个类型的样本范围有最大值和最小值。

**【检验结果的解释】**

**结果计算**

计算每个标准，质控和未知样本的吸光度的平均值。准备log-log图纸将每个标准的吸光度均值绘制在纵座标与IGF-1浓度值在横座标的对数相关图。从标准曲线图中读出质控与未知样本的μ g/L结果。

对于评估较低浓度值我们建议绘制与低浓度标准值对应浓度的线性图（linear-linear）。未知样本的结果直接在曲线中读取。

可有选择的使用数据减少方法，但是操作人员必须确定所选择的曲线是合适的并给出可接受的结果。

推荐平整光滑的曲线。

单位转换：

$$\begin{array}{ccc}
 & x \ 0.131 & \Rightarrow \\
 X \ \mu\text{g/L} & & Y \ \text{nmol/L} \\
 \leftarrow & x \ 7.63 & 
 \end{array}$$

**样本数据分析：**

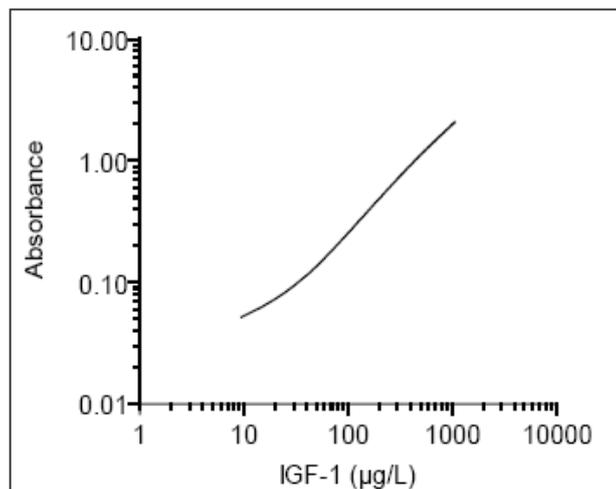
这些数据仅作为例子介绍，不能用于任何样本结果的计算。

孔	描绘	吸光度	平均吸光度	结果U/L
A1, A2	标准0 0 μ g/L	0.031 0.035	0.033	
B1, B2	标准1 9.5 μ g/L	0.051 0.053	0.052	
C1, C2	标准2 40 μ g/L	0.116 0.112	0.114	
D1, D2	标准3 100 μ g/L	0.250 0.256	0.253	
E1, E2	标准4 440 μ g/L	1.000 1.002	1.001	
F1, F2	标准5 1070 μ g/L	2.073 2.091	2.082	
G1, G2	样本1	0.068 0.068	0.068	18.4
H1, H2	样本2	1.090	1.102	488.7

		1.115	
--	--	-------	--

### 典型的标准曲线:

该样品刻度曲线仅作例图



### 【检验方法的局限性】

1. 样本包含的分析物浓度超过最高的标准液浓度时，样本要稀释重做。
2. 在任何疾病诊断程序的结果必须连同病人的临床症状和医生取得的信息一同进行解释。
3. 以下物质已经通过测试并且没有发现对OCTEIA® IGF-1分析有干扰：  
 血红蛋白           检测最高浓度为490 mg/dL  
 胆红素            检测最高浓度为360 µmol/L  
 脂类                检测最高浓度为45.1 mmol/L（甘油三脂）
4. IGF-1曲线变曲的钩状反应在10000 µg/L下进行，并且没有发现有任干扰效应。

### 【产品性能指标】

#### 准确性

OCTEIA® IGF-1 试剂盒与已知定量检测IGF-1的双位点夹心免疫酶分析方法进行比较。67个样本，选择宽的IGF-1范围 [12-627 µg/L]，用两种方法同时分析。对比的数据使用最小二乘法回归。  
 $y = 0.45 [x] - 11.82$ ; 相关系数(r) = 0.94。

#### 精密度

批内变异分析 (n=6)		批内变异分析 (n=21)	
平均值 (µg/L)	%CV	平均值 (µg/L)	%CV
66.7	3.5	90.7	7.0
120.9	2.3	186	7.1
102.2	3.3		

#### 灵敏度

灵敏度是由20个零点标准液乘以2个标准差的平均值来决定的，校正后的相应浓度为1.9 µg/L。

#### 线性

线性的分析是由稀释的样本与“0”标准液进行分析。

样本	测量 (µg/L)	期望值 (µg/L)	%M/E
A	106.1	-	-
A/2	52.9	53.0	100
A/4	28.0	26.5	105
A/8	13.9	13.3	105
B	576.5	-	-

B/2	265.5	288.3	92
B/4	150.1	144.2	104
B/8	75.4	72.1	105
		平均	102

### IGF-1结合蛋白的失活

35个样本的IGF-1浓度从10.5到512  $\mu\text{g/L}$ 与酸-乙醇和IDS释放剂提取的样本分别进行检测分析。酸-乙醇的结果是IDS释放剂结果的92.9%(CV为20.5%)。

### 回收

回收试验是在样本中加入IGF-1作为分析。

样本浓度( $\mu\text{g/L}$ )	IGF-1加入( $\mu\text{g/L}$ )	测量( $\mu\text{g/L}$ )	回收( $\mu\text{g/L}$ )	回收(%)
5.4	376	379.5	374.1	100
16.3	376	414.5	398.2	106
124.4	376	468.8	344.4	92
			平均	99

### 特异性

通过在“0”和“100”  $\mu\text{g/L}$ 标准品中加入最高浓度为40,000  $\mu\text{g/L}$ 的IGF-2、25 IU/L的胰岛素和1000  $\mu\text{g/L}$ 的胰岛素原, IGF-2、胰岛素、胰岛素原的潜在交叉反应和干扰已被测试。发现并没有出现干扰。

### 【注意事项】

#### 警告和预防

OCTEIA® IGF-1试剂盒的分析方法仅用于研究使用, 不能在人类或其它动物体内使用。该产品必须严格按照试剂盒内附的说明书内所述的操作一致。如果不遵从使用说明书的用法而产生废物导致出现任何的损失或损害(除法令所需要), IDS公司将不负任何责任。

**注意: 该试剂盒含有人类/动物来源的物质。处理试剂时应将试剂作为有传染性的物质处理。**

适当的预防和好的实验室操作习惯必须在试剂盒的保存, 使用和处理时使用。丢弃试剂时应按当地的规定程序处理。

**人类血清:** 标准品[**CAL**]和质控品[**CTRL**]

在这个产品准备中使用的人类物质已经过FDA推荐的方法检测其中的人类免疫缺陷性病毒(HIV I & II)抗体、肝炎B表面抗原、肝炎C表面抗体(HBV& HCV), 均显示为阴性。没有测试能完全保证传染性的因子不存在, 所有试剂应该按照生物研究安全性水平(Biosafety Level) 2 处理;

#### 叠氮化钠

试剂盒内的一些试剂包含作为防腐剂的叠氮化钠, 它可与铝、铜或者黄铜铝制品形成高爆炸性的金属叠氮化物。在处理时, 用大量的水冲以防止生成金属的叠氮化物。

#### 四甲基联苯胺

TMB底物[**TMB**]含3,3',5,5'-四甲基联苯胺。

R21/22 皮肤的接触或吞咽都是有害。

S36/37 穿着适当的保护衣服和手套。

#### 0.1M 硫酸

终止液[**H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>**]包含1M的硫酸。

R36/38 刺激眼睛和皮肤;

S26 如果接触到眼睛, 马上用大量的水冲洗并且寻求医生建议;

S36/37 穿着保护适当的衣服和手套。

### 【参考文献】

- Daughaday WH, Mariz IK, Blethen SL. Inhibition of access of bound somatomedin to membrane receptor and immunobinding sites: a comparison of radioreceptor and radioimmunoassay of somatomedin in native and acid-ethanol extracted serum. J Clin Endocrinol Metab 1980; 51: 781-788.
- Oppizi G, Petroncini M, Dallabonzana, et al. Relationship between somatomedin C and growth hormone levels in acromegaly: Basal and dynamic evaluation. J Clin Endocrinol Metab 1986; 67: 1348-1353.
- Barkan AL, Beitins IZ, Kelch RP. Plasma immunoreactive insulin-like growth factor 1 in acromegaly: Correlation with the degree of growth hormone hypersecretion. J Clin Endocrinol Metab 1988; 67: 69-73.
- Baxter RC. Characterisation of the acid-labile subunit of the growth hormone dependent insulinlike growth factor binding protein complex. J Clin Endocrinol Metab 1988; 67: 265-272.

5. Rudd BT. Growth, growth hormone, and the somatomedins: A historical perspective and current concepts. Ann Clin Biochem 1991; 28: 542-555.

6. Bristow, AF., Gooding, .R.P. and Gaines - Das, R.E. [1990]. The International Reference Reagent for Insulin-Like Growth Factor-1. Journal of Endocrinology, 125, 191-197.

**【生产企业】**

生产者名称: 英国 Immunodiagnostic Systems Limited(IDS Ltd)

生产者/生产场所地址: 10 Didcot Way,Boldon Business Park,Boldon,Tyne&Wear,NE35 9PD,UK

联系方式: +44 (0) 191 519 0660

传真: +44 (0) 191 519 0760

网址: www.idsltd.com

售后服务机构: 北京荣志海达生物科技有限公司

地址: 北京市海淀区永定路 88 号长银大厦 12 层 B12 室

电话: +86 10 58895646 +86 20 32293178

传真: +86 10 58895611 +86 20 32293177

电子邮箱: info@rz-biotech.com

网址: www.rz-biotech.com

**【医疗器械生产企业许可证编号】**

**【医疗器械注册证书编号】**

**【产品标准编号】**

**【说明书批准及修改日期】**

*仅供参考, 请以原版英文说明书为准!*