

DKK-1

(EN) ENZYME IMMUNOASSAY FOR THE QUANTITATIVE DETERMINATION OF
HUMAN DKK-1 IN SERUM
CAT. NO. BI-20413. 12 X 8 TESTS

(DE) ENZYM IMMUNOASSAY ZUR QUANTITATIVEN BESTIMMUNG VON
HUMAN DKK-1 IN SERUM
KAT. NR. BI-20413. 12 X 8 TESTE

FOR RESEARCH USE ONLY
NOT FOR USE IN DIAGNOSTIC PROCEDURES

rev.no. 130823

Biomedica Medizinprodukte GmbH & Co KG, A-1210 Wien, Divischgasse 4
Tel. +43/1/291 07 45, Fax +43/1/291 07 85, E-mail export@bmgrp.com



CONTENT / INHALT

- 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

Dickkopf-1(DKK-1) is a 28.67 Da secreted protein that acts as soluble inhibitor of the WNT signalling pathway. This pathway contains lipid-modified glycoproteins that activate cell surface receptor-mediated signal transduction to regulate cell activities like: cell fate, proliferation, migration, polarity and gene expression. DKK-1 regulates developmental processes of all kinds. Thus, DKK-1 is also involved in the regulation of bone metabolism as it effects osteoblast differentiation and in regulation of tumourgenetic activity.

2) CONTENTS OF THE KIT

CONT	KIT COMPONENTS	QUANTITY
PLATE	Mouse monoclonal anti human DKK-1 antibody pre-coated microtiter strips in strip holder packed in aluminium bag with desiccant	12 x 8 tests
WASHBUF	Wash buffer concentrate 20x, natural cap	1 x 50 ml
ASYBUF	Assay buffer, red cap, ready to use	1 x 10 ml
AB	biotinylated DKK-1 antibody, green cap, ready to use	1 x 7 ml
STD	Standards (0, 10, 20, 40, 80, 160 pmol/l), white caps, lyophilised	6 vials
CTRL	Control, yellow cap, lyophilised, exact concentration after reconstitution see label	1 vial
CONJ	Conjugate (streptavidin-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, white cap, ready to use	1 x 7 ml

3) ADDITIONAL MATERIAL IN THE KIT

- 2 self-adhesive plastic films
- QC protocol
- Protocol sheet
- Instruction manual for use

4) MATERIAL AND EQUIPMENT REQUIRED BUT NOT SUPPLIED

- Precision pipettes calibrated to deliver 20 µl, 50 µl, 100 µl, 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, alternative multichannel pipette or manifold dispenser
- Distilled or deionised water

5) REAGENTS AND SAMPLE PREPARATION

The assay has been validated for the use of serum samples.

All reagents and non-reconstituted STDs and CTRL are stable at 4°C (2-8°C) until expiration date stated on the label of each reagent.

Sample preparation:

Collect venous blood samples by using standardized blood collection tubes for serum. Allow samples to clot for 30 minutes at room temperature before performing serum separation by centrifugation, e.g. 20 min at 2000 x g, preferably at 4°C (2-8°C).

Measure the acquired samples immediately or aliquot samples in polypropylene tubes and store at -25°C or lower. Avoid more than three freeze-thaw cycles. Lipemic or haemolysed samples may give erroneous results. Samples should be mixed well before assaying.

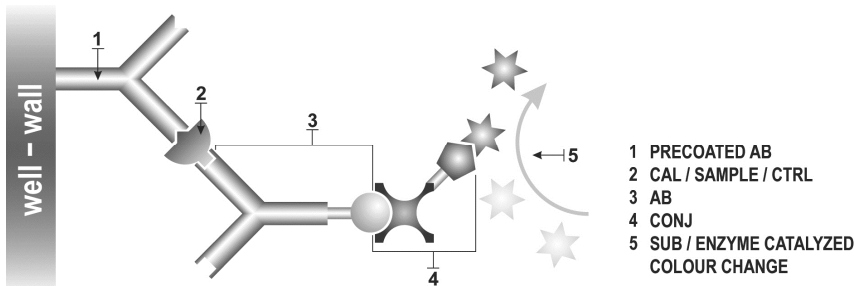
For further information on sample stability please visit our website www.bmgrp.com/technical file or contact our customer service by e-mail export@bmgrp.com or by phone +43/ 1/ 29107-45.

Reconstitution/Handling:

STD (Standards) and CTRL (Control): Add 200 µl deionised or distilled water into each vial, reconstitute at room temperature (18-24°C) for 15 min. Swirl gently. Take care of complete dissolving of lyophilisate. The reconstituted STDs and CTRL shall be stored at -25°C or lower until expiry date stated on the label. **Avoid more than one freeze-thaw cycle.**

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. The diluted buffer is stable at 4°C (2-8°C) until expiry date stated on label. Use only diluted WASHBUF (Wash buffer) for the assay performance.

6) PRINCIPLE OF THE ASSAY:



7) ASSAY PROTOCOL

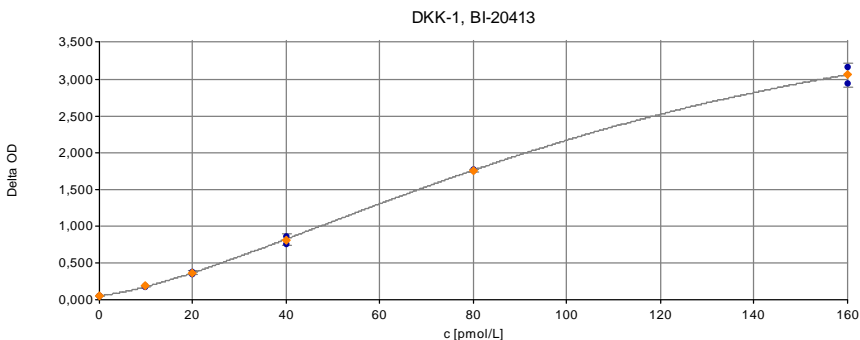
All reagents and samples must be at room temperature (18-24°C) before they can be used in the assay.
Mark position for BLK/STD/SAMPLE/CTRL (Blank/Standard/Sample/Control) on the protocol sheet.
Take microtiter strips out of the aluminium bag, reserve one well as Blank. Store unused strips with desiccant at 4°C (2-8°C) in the aluminium bag. Strips are stable until expiry date stated on the label.
1. Pipette 50 µl ASYBUF (assay buffer) into all wells.
2. Add 20 µl STD/CTRL/SAMPLE (standards/control/sample) in duplicate into respective wells, except blank.
3. Add 50 µl AB (biotinylated DKK-1 antibody) into each well, except blank.
4. Cover tightly, swirl gently and incubate for 2 hours at room temperature (18-24°C).
5. Aspirate and wash wells 5x with 300 µl diluted WASHBUF (wash buffer). Remove remaining WASHBUF by hitting plate against paper towel after the last wash.
6. Add 100 µl CONJ (conjugate) into each well.
7. Cover tightly and incubate for 1 hour at room temperature (18-24°C).

8. Aspirate and wash wells 5x with 300 μ l diluted WASHBUF (wash buffer). Remove remaining WASHBUF by hitting plate against paper towel after the last wash.
9. Add 100 μ l SUB (substrate) into each well.
- 10. Incubate for 30 min at room temperature (18-24°C) in the dark.**
11. Add 50 μ l STOP (stop solution) into each well.
12. Measure absorbance immediately at 450 nm with reference 630 nm, if available.

8) CALCULATION OF RESULTS

Read the optical density (OD) of all wells on a plate reader using 450 nm wavelength (correction wavelength 630 nm). Subtract the blank OD from the values of STD, CTRL and sample. Construct the standard curve from the OD values of the STD. Use commercially available software or graph paper. Obtain sample concentration from this standard curve. The assay was evaluated with 5PL algorithm. Different curve fitting methods need to be evaluated by the user.

Example typical STD-curve:



The quality control (QC) protocol supplied with the kit shows the results of the final release QC for each kit at production date. Data for OD 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 OD of 1.50 or more is obtained for the STD with the highest concentration and the value of the CTRL is in range (target range see label).

9) ASSAY CHARACTERISTICS

Values from apparently healthy individuals:	Mean: 35 pmol/l (n=51, Serum), Median: 36 pmol/l (SD 15 pmol/l) Each laboratory should establish its own reference range for the samples under investigation.
Standard range:	0 – 160 pmol/l
Conversion factor pg/ml to pmol/l:	1 pg/ml = 0.039 pmol/l (MW: 25.8 kDa)
Sample volume:	20 μ l human serum
Detection limit:	(0 pmol/l + 3 SD): 1.7 pmol/l
Incubation time:	2 h / 1 h / 30 min @ RT

For further information on assay characteristics please visit our website www.bmgrp.com/ technical file or contact our customer service by e-mail export@bmgrp.com or by phone +43/ 1/ 29107-45.

10) PRECISION

Intra-assay: 2 samples of known concentrations were tested 5 times within 1 assay lot by 1 operator.

Inter-assay: 2 samples of known concentrations were tested 9 times within 2 assay lots and each in a different test assembly.

Intra-assay (n=5)	Sample 1	Sample 2
Mean (pmol/l)	19.9	80.1
SD (pmol/l)	0.5	2.7
CV (%)	3	3

Inter-assay (n=9)	Sample 1	Sample 2
Mean (pmol/l)	19.7	80.4
SD (pmol/l)	0.6	2.1
CV (%)	3	3

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 with 3rd generation tests against HIV-Ab and HBsAg, and were found negative. Nevertheless, they should be handled and disposed as if they were infectious.

All liquid reagents contain $\leq 0.1\%$ Proclin 300 as preservative.

Avoid contact with skin and mucous membrane. Proclin 300 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 the reagents by using gloves. Flush with water immediately after contact!

13) LITERATURE

1. The role of Dickkopf-1 in bone development, homeostasis, and disease. Pinzone JJ et al., Blood, 2009; 113: 517-525.
2. Elevated Serum Dickkopf-1 Levels Increase Risk of Hip and Vertebral Fracture in Older Caucasian Women. Arasu A et al., Endocr Rev, 2013; 34: SAT-224.
3. Bone microstructural changes revealed by high-resolution peripheral quantitative computed tomography imaging and elevated DKK1 and MIP-1 α levels in patients with MGUS. Ng AC et al., Blood, 2011; 118: 6529-6534.
4. Comparative Effect of Zoledronic Acid Versus Denosumab on Serum Sclerostin and Dickkopf-1 Levels of Naive Postmenopausal Women With Low Bone Mass: A Randomized, Head-to-Head Clinical Trial. Anastasilakis AD et al., J Clin Endocrinol Metab, 2013; 98: 3206-3212.
5. Low circulating Dickkopf-1 and its link with severity of spinal involvement in diffuse idiopathic skeletal hyperostosis. Senolt L et al., Ann Rheum Dis, 2012; 71: 71-74.

1) EINLEITUNG

Dickkopf-1 (DKK-1) ist ein 28,67 Da extrazelluläres Protein, das im WNT Signalweg als Inhibitor fungiert. Dieser Signalweg besteht aus lipid-modifizierten Glykoproteinen, welche Zellmembran-vermittelte Signaltransduktionen aktivieren. Die WNT Signalkaskade ist in verschiedene Zellaktivitäten involviert, wie die Lebensdauer, Proliferation, Zellmigration, Polarität und Genexpression. Außerdem ist DKK-1 maßgeblich an der Steuerung von Entwicklungsprozessen beteiligt. Weiters spielt DKK-1 in der Regulation des Knochenstoffwechsels eine Rolle, da es die Differenzierung von Osteoblasten inhibiert. DKK-1 wird auch von verschiedenen Tumoren sezerniert.

2) INHALT DES KITS

CONT	KIT KOMPONENTEN	MENGE
PLATE	Anti human DKK-1, beschichtet auf Mikrotiterplattenstreifen im Streifenhalter. Verpackt im Aluminium Beutel mit Trockenmittel.	12 x 8 Teste
WASHBUF	Waschpuffer, 20fach Konzentrat, durchsichtige Kappe	1 x 50 ml
ASYBUF	Assay Puffer, rote Kappe, gebrauchsfertig	1 x 10 ml
AB	Biotinylierter DKK-1 Antikörper, grüne Kappe, gebrauchsfertig	1 x 7 ml
STD	Standards (0, 10, 20, 40, 80, 160 pmol/l), weiße Kappen, lyophilisiert	6 x vial
CTRL	Kontrolle, gelbe Kappe, lyophilisiert, exakte Konzentration siehe Etikett	1 x vial
CONJ	Konjugat (Streptavidin-HRPO), braune Kappe, gebrauchsfertig	1 x 13 ml
SUB	Substrat (TMB Lösung), blaue Kappe, gebrauchsfertig	1 x 13 ml
STOP	Stopp Lösung, weiße Kappe, gebrauchsfertig	1 x 7 ml

3) ZUSÄTZLICHES MATERIAL IM KIT

- 2 selbstklebende Abdeckfolien
- QC Protokoll
- Protokoll Blatt
- Arbeitsanleitung (Beipacktext)

4) ZUSÄTZLICH BENÖTIGTES MATERIAL UND GERÄTE

- Kalibrierte Präzisionspipetten für 20 µl, 50 µl, 100 µl, 200 µl inkl. Pipettenspitzen
- Mikrotiterplattenphotometer mit 450 nm Filter (630 nm Referenz)
- Millimeterpapier oder Software
- Mikrotiterplatten Wascher wird empfohlen, Alternativen: Mehrkanalpipetten oder Dispenser
- Destilliertes oder deionisiertes Wasser

5) REAGENZIEN UND PROBENVORBEREITUNG

Der Test ist für Serumproben validiert.

Alle Reagenzien und lyophilisierte STDs und CTRL sind bei 4°C (2-8°C) bis zum Haltbarkeitsdatum, das auf dem Etikett vermerkt ist, lagerbar.

Probenvorbereitung:

Abnahme von venösem Blut mittels standardisierter Blutabnahmeröhrchen zur Gewinnung von Serum. Lassen Sie die Proben 30 Minuten bei Raumtemperatur koagulieren. Zentrifugieren Sie die Proben nach Koagulation für 20 Minuten bei 2000 x g, bevorzugt bei 4°C (2-8°C).

Messen Sie anschließend das gewonnene Serum oder aliquotieren Sie für eine längere Aufbewahrung die Proben in PP Röhrchen (z.B. Eppendorf) und lagern Sie diese bei -25°C oder tiefer. Vermeiden Sie mehr als drei Frier-Tau Zyklen. Lipämische und hämolytische Proben können falsche Ergebnisse liefern. Proben vor Verwendung gut mischen.

Nähere Informationen zur Probenstabilität finden Sie auf unserer Website www.bmgrp.com/ technical file oder kontaktieren Sie unseren Kundenservice, e-mail unter export@bmgrp.com oder Tel. unter +43/ 1/ 29107-45.

Rekonstitution/Handhabung:

- **STD (Standards) und CTRL (Kontrolle):** Lösen Sie das Lyophilisat in jeweils 200 µl destilliertem Wasser bei Raumtemperatur (18-24°C) für 15 Minuten. Achten Sie auf vollständige Auflösung des Lyophilisates. Die rekonstituierten STD und CTRL können bei -25°C oder niedriger bis zum Ablaufdatum gelagert werden. **Vermeiden Sie mehr als einen Frier-Tau Zyklus.**
- **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. Der verdünnte Puffer ist bei 4°C (2-8°C) bis zum Ablaufdatum haltbar. Im Testsystem darf nur verdünnter WASHBUF (Waschpuffer) verwendet werden.

6) TESTPRINZIP

Siehe Kapitel 6) PRINCIPLE OF THE ASSAY im englischen Teil des Beipacktextes.

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 Protokoll Blatt.
Nehmen Sie die benötigten Mikrotiterstreifen aus dem Aluminium Beutel. Mindestens 1 Well für den Leerwert reservieren. Nicht verwendete Mikrotiterstreifen können mit Trockenmittel im Aluminium Beutel auf 4°C (2-8°C) bis zum angegebenen Ablaufdatum gelagert werden.
1. Pipettieren Sie 50 µl ASYBUF(Assaybuffer) in alle wells.
2. Pipettieren Sie 20 µl STD/ SAMPLE/CTRL (Standard/ Probe/Kontrolle) in Doppelbestimmung in die Mikrotiterstreifen, mit Ausnahme des Leerwertes
3. Pipettieren Sie 50 µl AB (biotinylierter DKK-1 Antikörper) in alle Wells, mit Ausnahme des Leerwertes, gut mischen.
4. Streifen abdecken und 2 Stunden bei Raumtemperatur (18-24°C) inkubieren.
5. Inhalt der Wells verwerfen und 5x mit 300 µl verdünntem WASHBUF (Waschpuffer) waschen. Nach dem letzten Waschschrift Reste von Waschpuffer durch Ausklopfen auf saugfähigem Papier entfernen.
6. Pipettieren Sie 100 µl CONJ (Konjugat) in alle Wells.
7. Streifen abdecken und 1 Stunde bei Raumtemperatur (18-24°C) inkubieren.
8. Inhalt der Wells verwerfen und 5x mit 300 µl verdünntem WASHBUF (Waschpuffer) waschen. Nach dem letzten Waschschrift Reste von Waschpuffer durch Ausklopfen auf saugfähigem Papier entfernen.
9. Pipettieren Sie 100 µl SUB (Substrat) in alle Wells.
10. 30 Minuten bei Raumtemperatur (18-24°C) im Dunkeln inkubieren.
11. Pipettieren Sie 50 µl STOP (Stopplösung) in alle Wells.
12. Extinktion unmittelbar bei 450 nm messen, mit 630 nm als Referenz, wenn möglich.

8) BERECHNUNG DER ERGEBNISSE

Messen Sie die optische Dichte (OD) von allen Wells mit einem Mikrotiterplattenphotometer mit einem 450 nm Filter (Referenz 630 nm). Die OD des Leerwertes ist von den Werten der STD, CTRL und Proben abzuziehen. Konstruieren Sie eine Standardkurve aus den OD Werten der STD unter Verwendung von kommerziell erhältlichem Millimeterpapier oder einer geeigneten Software. Das Testsystem wurde mit einem 5 Parameter Algorithmus evaluiert. Andere Auswerte Algorithmen müssen vom Verwender evaluiert werden. Die Konzentration der Proben wird aus der Standardkurve abgelesen.

Typische STD-Kurve:

Siehe Kapitel 8) CALCULATION OF RESULTS im englischen Teil des Beipacktextes.

Das beige packte QC Protokoll gibt die Resultate bei der QC Freigabe des Kits an. Vom Verwender erhaltene Daten der 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 1,50 oder höher erreicht und der Wert der CTRL im gültigen Bereich ist (Bereich siehe Etikett).

9) TESTMERKMALE

Werte von Blutspendern:	Mittelwert: 35 pmol/l (n=51, Serum) Median: 36 pmol/l (SD 15 pmol/l) Jedes Labor sollte eigene Referenzwerte erheben.
Standardbereich:	0 – 160 pmol/l
Umrechnung:	1 pg/ml = 0,039 pmol/l (MW: 25,8 kDa)
Probenvolumen:	20 µl Serum
Detektionsgrenze:	(0 pmol/l + 3 SD): 1,7 pmol/l
Inkubationszeiten:	2 h / 1 h / 30 Min

Nähere Informationen zu den Testmerkmalen finden Sie auf unserer Website unter www.bmgrp.com/ technical file oder Sie kontaktieren unseren Kundenservice, e-mail unter export@bmgrp.com, Tel. unter +43/ 1/ 29107-45.

10) PRÄZISION

Intra-assay: 2 Proben wurden 5 Mal in Doppelbestimmung von einem Operator in einem Ansatz getestet.
Inter-assay: 2 Proben wurden 9 Mal in 2 verschiedenen Lots in unterschiedlichen Ansätzen getestet.

Intra-assay (n=5)	Probe 1	Probe 2	Inter-assay (n=9)	Probe 1	Probe 2
Mittelwert (pmol/l)	19,9	80,1	Mittelwert (pmol/l)	19,7	80,4
SD (pmol/l)	0,5	2,7	SD (pmol/l)	0,6	2,1
VK (%)	3	3	VK (%)	3	3

11) TECHNISCHE MERKMALE

- Reagenzien von verschiedenen Lots oder Tests 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 bei den Inkubationen mit Abdeckfolie abgedeckt sein.
- Vermeiden Sie Schaumbildung beim Mischen der Reagenzien.

12) VORSICHTSMASSNAHMEN

Alle Bestandteile humanen Ursprunges wurden mit Tests der 3.Generation auf HIV-Ak und HBsAg getestet und negativ gefunden. Trotzdem sollten die Reagenzien als potentiell infektiös behandelt werden.

Alle flüssigen Reagenzien enthalten $\leq 0,01\%$ Proclin 300 als Konservierungsmittel.

Vermeiden Sie Kontakt mit Augen, Haut und Schleimhaut. Proclin 300 ist in der verwendeten Konzentration nicht toxisch. Allergische Reaktionen sind möglich.

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

13) LITERATUR

Siehe Kapitel 13) LITERATURE im englischen Teil des Beipacktextes.

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 zdravotnícký materiál (určené pre diagnostiku „in vitro“) / In vitro diagnostický zdravotnícký 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 / Skladujte v rozsahu / Skladujte v 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 eelvégzésére elegendő / Obsahuje materiál pre x testov / Obsahuje materiál pro x testů

BI-20413 DKK-1

ASSAY PROTOCOL AND CHECKLIST

PREPARATION OF REAGENTS:

- Bring all reagents to room temperature (18-24°C).
- Prepare reagents as instructed.
- Bring unused and prepared components to the storage temperature mentioned in the package insert.
- Take microtiter strips out of the aluminium bag and mark positions on the protocol sheet.

TEST PROCEDURE:

- Step 1) Pipette 50 µl ASYBUF (Assaybuffer) into each well.
- Step 2) Pipette 20 µl STD/SAMPLE/CTRL (standard/sample/control) into each well, except blank.
- Step 3) Add 50 µl AB (biotinylated anti DKK-1) into all wells except blank, swirl gently.
- Step 4) Cover tightly and incubate for 2 hours at RT (18-24°C).**
- Step 5) Aspirate and wash wells with 300 µl WASHBUF (Wash buffer) five times. Remove remaining buffer by hitting plate against paper towel.
- Step 6) Add 100 µl CONJ (Conjugate) into each well.
- Step 7) Cover tightly and incubate for 1 hour at RT (18-24°C).**
- Step 8) Aspirate and wash wells with 300 µl WASHBUF (Wash buffer) five times. Remove remaining buffer by hitting plate against paper towel.
- Step 9) Add 100 µl SUB (Substrate) into each well.
- Step 10) Incubate for 30 minutes at RT (18-24°C) in the dark.**
- Step 11) Add 50 µl STOP (Stop solution) into each well.
- Step 12) Read Optical Density at 450 nm with reference 630 nm, if available.