

BG051PO001-3.3.06 -0059

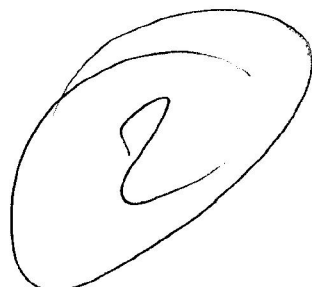
ФУНДАМЕНТАЛНО И ПРИЛОЖНО ОБУЧЕНИЕ
НА ДОКТОРАНТИ, ПОСТДОКТОРАНТИ,
СПЕЦИАЛИЗАНТИ И МЛАДИ УЧЕНИ
В ИНТЕРДИСЦИПЛИНАРНИ БИОЛОГИЧНИ НАПРАВЛЕНИЯ
И ИНОВАЦИОННИ БИОТЕХНОЛОГИИ.

Бенефициент:

Институт по биология и имунология на размножаването "Акад. Кирил Братанов"

Партньори:

Софийски Университет „Св. Климент Охридски“, Биологически Факултет
Химикотехнологичен и металургичен университет, катедра „Биотехнология“
Проген ООД



Образец № 3

ДО ИБИР – БАН
бул. „Цариградско шосе“ № 73
гр. София

ТЕХНИЧЕСКА ОФЕРТА

За участие в открита процедура за възлагане на обществена поръчка с предмет:

«Доставка на материали /реактиви/ и консумативи по обособени позиции»

ЗА ОБОСОБЕНА ПОЗИЦИЯ № и име .

Обособена позиция № 22 - Колориметрични ELISA китове за определяне на цитокини

Настоящата оферта е подадена от: Ай Ви Ди България ООД/наименование на участника/, ЕИК/БУЛСТАТ
200123131;

УВАЖАЕМА ГОСПОЖО ДИРЕКТОР,

Заличен подпис - чл.2, ал.1
от ЗЗЛД

1. С настоящето представяме нашата техническа оферта за **Обособена позиция № 22 - Колориметрични ELISA китове за определяне на цитокини.** (офертата се изготвя за всяка обособена позиция по отделно) от поръчката.

Заличен
подпис - чл.2,
ал.1 от ЗЗЛД

Предлагаме следните артикули за обособената позиция, по която участвуваме, като прилагаме попълнена таблица, доказваща съответствието на предлаганите от нас артикули с техническите на Възложителя:

Заличен печат - чл.37, ал1 от ЗЗК - търговска тайна;
Заличен подпис - чл.2, ал.1 от ЗЗЛД

Проектът се осъществява с финансовата подкрепа на Оперативна програма „Развитие на човешките ресурси“ 2007-2013, съфинансирана от Европейския съюз чрез “Европейския социален фонд“.

Заличени подписи - чл.2, ал.1 от ЗЗЛД

(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)
№ по ред	Номер от ОП	Наименование	Единица мярка	Количество	Предложение на участника, включващо технически характеристики на артикула, съобразно изискванията на техническата спецификация на Възложителя	Предложение на участника, включващо каталожен или партиден номер на артикула, даден от производителя на артикула и име на производителя на артикула (тази колона се попълва задължително само за обособени позиции № 1 – 38)
	ОП Р-22	Обособена позиция № 22 - Колориметрични ELISA китове за определяне на цитокини				

215	ОП Р-22-1	ELISA кит за определяне на човешки IL-2; опаковка от 10 плаки по 96 теста	кит	1	ELISA кит за определяне на човешки IL-2; опаковка от 10 плаки по 96 теста	88-7025-86 , ebioscience, 10 плаки по 96 теста
216	ОП Р-22-2	ELISPOT кит за определяне на човешки IFN-gamma; опаковка от 2 плаки по 96 теста	кит	1	ELISPOT кит за определяне на човешки IFN-gamma; опаковка от 2 плаки по 96 теста	88-7386-21, ebioscience, 2 плаки по 96 теста
217	ОП Р-22-3	ELISA кит за определяне на човешки/миши TGF beta 1; опаковка от 2 плаки по 96 теста	кит	1	ELISA кит за определяне на човешки/миши TGF beta 1; опаковка от 2 плаки по 96 теста	88-8350-22, ebioscience, 2 плаки по 96 теста
218	ОП Р-22-4	ELISA кит за определяне на човешки IL-10; опаковка от 10 плаки по 96 теста	кит	1	ELISA кит за определяне на човешки IL-10; опаковка от 10 плаки по 96 теста	88-7106-86 , ebioscience, 10 плаки по 96 теста
219	ОП Р-22-5	ELISA кит за определяне на човешки CD83; опаковка от 96 теста	кит	1	ELISA кит за определяне на човешки CD83; опаковка от 96 теста	MBS924667 , MyBiosource, 96 tests

Забележка: Колони (1) – (5) от таблицата се попълват съгласно Техническата Спецификация на Възложителя - Приложение № 1 от документацията за участие – без да се променят !!

2. Срокът за изпълнение на доставки по обособената позиция, след получаване на възлагателно писмо от Възложителя е до **1 (един) календарен ден** (минимум 1 ден и не повече от 45 календарни дни. При непълване от участника се приема 45 кал. дни).

3. За обособени позиции № 1 – 38: Остатъчният срок на годност на предложените с офертата стоки към датата на доставка ще бъде **12 (дванадесет) месеца** (~~не по-малко от 9 месеца, където е приложимо~~).

Заличен печат - чл.37, ал1 от 33К - търговска тайна;
Заличен подпис - чл.2, ал.1 от 33ЛД

Проектът се осъществява с финансовата подкрепа на Оперативна програма „Развитие на човешките ресурси“ 2007-2013, съфинансирана от Европейския съюз чрез “Европейския социален фонд”

Заличен подпис - чл.2, ал.1 от 33ЛД

Заличен подпис - чл.2, ал.1 от 33ЛД

Заличени подписи - чл.2, ал.1 от 33ЛД

Под остатъчен срок на годност се има предвид времето за което реактивът е годен за употреба след доставка в сградата на Възложителя.

4. Ако бъдем избрани за изпълнител се ангажираме да осигурим предложените с офертата стоки за целия срок на договора. В случай, че поради непредвидени обстоятелства същите бъдат спрени от производство се ангажираме да предложим продукт с еквивалентни или сходни характеристики.

5. Осигуряваме следното време за реакция, при подадена рекламация на артикул от страна на Възложителя, съгласно условията на договора: **1 (един) календарен ден (минимум 1 и максимум 14 календарни дни. При непопълване от участника се приема 14 кал. дни).** В посочения срок ще отговорим на Възложителя обосновано в писмен вид дали приемаме или отхвърляме рекламацията.

6. Стоките (с изключение на рециклирани тонери) ще се доставят в оригинална, ненарушена опаковка на производителя, при спазване на условията на производителя за транспорт и съхранение на артикула.

7. При доставка, стоките ще бъдат придружени от приложимите за случая сертификати и документи, издадени от производителя и/или контролиращи организации.

8. Подаването на настоящата техническа оферта удостоверява безусловното приемане от наша страна на всички изисквания и задължения, поставени от Възложителя в провежданата процедура за съответната обособена позиция.

! ВАЖНО: Ако участникът подава оферта за повече от една обособена позиция, плик № 2, т.е. Техническа оферта се представя за всяка обособена позиция по отделно в отделен плик № 2 и се надписва по следния начин:

„Име на участника:
Предложение за изпълнение на поръчката по обособена позиция №”

Дата 08.08.2014
гр. София

Заличен печат - чл.37, ал1 от ЗЗК -
търговска тайна;
Заличен подпис - чл.2, ал.1 от ЗЗЛД

/ подпис, печат /

Заличени лични данни - чл.2, ал.1 от ЗЗЛД

Ай Ви Ди България ООД

Заличени подписи - чл.2, ал.1 от ЗЗЛД

Проектът се осъществява с финансовата подкрепа на Оперативна програма „Развитие на човешките ресурси” 2007-2013, съфинансирана от Европейския съюз чрез “Европейския социален фонд”

Заличен подпис - чл.2, ал.1 от
ЗЗЛД

Ай Ви Ди България
София 1756
ж.к. Дървеница Бл. 48, вх. В

Заличени данни - чл.37, ал. 1 от ЗЗК - търговска тайна

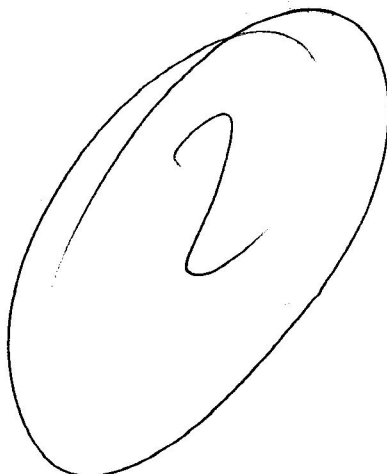
Заличени данни - чл.37, ал. 1 от ЗЗК - търговска тайна

Изх. No: 165/07.09.2014

До

Заличени лични данни - чл.2, ал.1 от ЗЗЛД

Председател на комисията
ИБИР БАН - София
Бул. Цариградско шосе 73
гр. София



Относно: Открита процедура за възлагане на обществена поръчка с предмет:
"Доставка на материали и реактиви и консумативи по обособени позиции" с 39 обособени позиции,
открита с решение N 375-НО от 20.06.2014г. На Възложителя

Уважаеми Заличени лични данни - чл.2, ал.1 от ЗЗЛД

Заличени текстове, тъй като се отнасят до други обособени позиции.

Заличени текстове, тъй като се отнасят до други обособени позиции.

4.7.1. Приложен електронен носител с методики на английски и български За об. Позиция 22 /всички подпозиции от 22.1 до 22.5/ и Описателен лист за За об. Позиция 22 /всички подпозиции от 22.1 до 22.5/

Заличени текстове, тъй като се отнасят до други обособени позиции.

Заличени текстове, тъй като се отнасят до други обособени позиции.

Заличен подпис - чл.2, ал.1 от ЗЗЛД

С Уважение,

Заличени лични данни - чл.2, ал.1 от ЗЗЛД

/Управител/

07.09.2014 г.

София

**ОПИСАТЕЛЕН ЛИСТ ЗА ПРЕДОСТАВЕНИТЕ МЕТОДИКИ НА ДИСК ПО ОБОСОБЕНА
ПОЗИЦИЯ**

22

НОМЕР ОТ ОП	НАИМЕНОВАНИЕ	Име на файл
ОП Р-22-1	ELISA кит за определяне на човешки IL-2; опаковка от 10 плаки по 96 теста	ОП Р-22-1_88-7025
ОП Р-22-2	ELISPOT кит за определяне на човешки IFN-gamma; опаковка от 2 плаки по 96 теста	ОП Р-22-2_88-7386
ОП Р-22-3	ELISA кит за определяне на човешки/миши TGF beta 1; опаковка от 2 плаки по 96 теста	ОП Р-22-3_88-8350
ОП Р-22-4	ELISA кит за определяне на човешки IL-10; опаковка от 10 плаки по 96 теста	ОП Р-22-4_88-7106
ОП Р-22-5	ELISA кит за определяне на човешки CD83; опаковка от 96 теста	ОП Р-22-5_MBS924667

Приложените методики на ел. носител са представени на англ. и в превод на български език.

05.09.2014

Георги Ралчев – управител

Ай Ви Ди България ООД

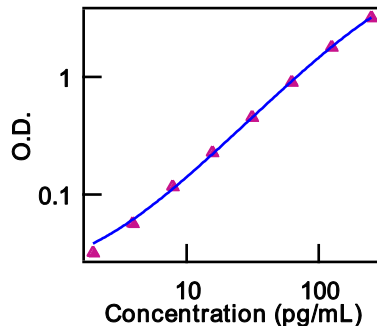
Заличен печат - чл.37, ал. 1 от ЗЗК -
търговска тайна;
Заличен подпис - чл.2, ал.1 от ЗЗЛД

Human IL-2 Ready-SET-Go! ELISA (2nd Generation)

Catalog Number: 88-7025

Also known as: Interleukin-2

RUO: For Research Use Only. Not for use in diagnostic procedures.



Standard curve of Human IL-2 ELISA Ready-SET-Go!

Product Information

Contents: Human IL-2 Ready-SET-Go!
ELISA (2nd Generation)

 **Catalog Number:** 88-7025

Sensitivity: 2 pg/mL

Standard Curve Range: 2 - 250 pg/mL



Temperature Limitation: Store at 2-8°C except standard which should be stored at less than or equal to -70°C.



Batch Code: Refer to vial



Use By: Refer to vial

Description

This Human IL-2 Ready-SET-Go! ELISA Set contains the necessary reagents, standards, buffers and diluents for performing quantitative enzyme-linked immunosorbent assays (ELISA). This ELISA set is specifically engineered for accurate and precise measurement protein levels from samples including serum, plasma, and supernatants from cell cultures. This second generation kit has increased sensitivity with a range from 2-250 pg/mL.

IL-2 is a 15kDa cytokine expressed by B cells, T cells, and dendritic cells. It signals via a heterotrimeric receptor and results in the activation of Jak/STAT pathways. IL-2 plays a critical role in the proliferation, activation, and differentiation of T cells. The development of CD4+CD25+ regulatory T cells is especially dependent on the presence of IL-2, making it an important immunoregulatory cytokine.

Components

Capture Antibody. Pre-titrated, purified antibody

Detection Antibody. Pre-titrated, biotin-conjugated antibody

Standard. Recombinant protein for generating standard curve and calibrating samples

10X Coating Buffer. Buffer for plating the Capture Antibody

5X ELISA/ELISPOT Diluent. Buffer for blocking and diluting the Detection Antibody and Enzyme

Enzyme. Pre-titrated Avidin-HRP

Substrate. 1X TMB Solution

Certificate of Analysis. Lot-specific instructions for dilution of antibodies and standards

96 Well Plate. Corning Costar 9018 (included with product Cat. #'s ending in suffixes -22, -76, -86)

Applications Reported

This ELISA set is for the quantitative detection of human IL-2 in serum, plasma, and tissue culture supernatant samples.

Applications Tested

This assay has been validated for the detection of endogenous human IL-2 with supernatant collected from cultures of normal peripheral blood monocytes stimulated with immobilized Anti-Human CD3 Functional Grade Purified (cat.

Not for further distribution without written consent.

Copyright © 2000-2012 eBioscience, Inc.

Tel: 888.999.1371 or 858.642.2058 • Fax: 858.642.2046 • www.ebioscience.com •
info@ebioscience.com

Human IL-2 Ready-SET-Go! ELISA (2nd Generation)

Catalog Number: 88-7025

Also known as: Interleukin-2

RUO: For Research Use Only. Not for use in diagnostic procedures.

16-0037) and soluble Anti-Human CD28 Functional Grade Purified (cat. 16-0289).

This assay was evaluated for specificity on a panel of 72 recombinant cytokines at 100 ng/mL. No significant crossreactivity was observed.

References

Chen Q, Kim YC, Laurence A, Punkosdy GA, Shevach EM. IL-2 controls the stability of Foxp3 expression in TGF-beta-induced Foxp3+ T cells in vivo. *J Immunol.* 2011 Jun 1;186(11):6329-37.

Malek TR. The main function of IL-2 is to promote the development of T regulatory cells. *J Leukoc Biol.* 2003 Dec;74(6):961-5. .

Smith SE, Warren GD, Thong YH, McCormack JG. Suppression of monocyte and neutrophil function by recombinant IL-2. *Mediators Inflamm.* 1993;2(1):59-65.

Related Products

00-0400 ELISA Wash Buffer - 10 x 1L Packets

00-4201 1X TMB Solution

00-4202 5X ELISA/ELISPOT Diluent

16-0037 Anti-Human CD3 Functional Grade Purified (OKT3)

16-0289 Anti-Human CD28 Functional Grade Purified (CD28.2)

39-8029 Human IL-2 Single-Use ELISA RSG Standard

Not for further distribution without written consent.

Copyright © 2000-2012 eBioscience, Inc.

Tel: 888.999.1371 or 858.642.2058 • Fax: 858.642.2046 • www.ebioscience.com •
info@ebioscience.com

Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA)

Research Use Only

Protocol: ELISA Ready-Set-Go!

The following protocol is a general guideline for the Ready-SET-Go! Sets

Materials Provided

- Please refer to the Certificate of Analysis (C of A) for components

Other Materials Needed

- Buffers*
 - Wash Buffer: 1x PBS, 0.05% Tween-20 (or eBioscience ELISA Wash Buffer Powder, Cat. No. 00-0400)
 - Stop Solution: 1M H₃PO₄ (recommended) or 2N H₂SO₄
- Pipettes
- Refrigerator & frost-free -20°C freezer
- 96-well plate (Corning Costar 9018 or NUNC Maxisorp®)
NOTE: The use of ELISA plates which are not high affinity protein binding plates will result in suboptimal performance, e.g., low signal or inconsistent data. Do not use tissue culture plates or low protein absorption plates. Use only the Corning Costar 9018 or NUNC Maxisorp (Cat. No. 44-2404) 96-well plates
- 96-well ELISA plate reader (microplate spectrophotometer)
- ELISA plate washer (highly recommended)

NOTE: To ensure optimal results from this ELISA Ready-SET-Go! Set, please only use the components included in the set. Exchanging of components is not recommended as a change in signal may occur.

Time Requirements

- 1 overnight incubation
- 4½-hour incubations
- 1 hour washing and analyzing samples

Experimental Procedure

1. Coat Corning Costar 9018 (or Nunc Maxisorp®) ELISA plate with 100 µL/well of capture antibody in 1X Coating Buffer (dilute as noted on C of A, which is included with the reagent set). Seal the plate and incubate overnight at 4°C.
2. Aspirate wells and wash 3 times with >250 µL/well Wash Buffer*. Allowing time for soaking (~ 1 minute) during each wash step increases the effectiveness of the washes. Blot plate on absorbent paper to remove any residual buffer.
3. Dilute 1 part 5X ELISA/ELISPOT Diluent with 4 parts DI water.* Block wells with 200 µL/well of 1X ELISA/ELISPOT Diluent. Incubate at room temperature for 1 hour.
4. Optional: Aspirate and wash at least once with Wash Buffer.
5. Using 1X ELISA/ELISPOT Diluent *, dilute standards as noted on the C of A to prepare the top concentration of the standard. Add 100 µL/well of top standard concentration to the appropriate

Not for further distribution without written consent.

Copyright © 2000-2014 Affymetrix, eBioscience

Tel: 888.999.1371 or 858.642.2058 • Fax: 858.642.2046 • www.ebioscience.com •
info@ebioscience.com

Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA)

Research Use Only

wells. Perform 2-fold serial dilutions of the top standards to make the standard curve for a total of 8 points. Add 100 μ L/well of your samples to the appropriate wells. Seal the plate and incubate at room temperature for 2 hours (or overnight at 4°C for maximal sensitivity).

6. Aspirate/wash as in step 2. Repeat for a total of 3-5 washes**.
7. Add 100 μ L/well of detection antibody diluted in 1X ELISA/ELISPOT Diluent * (dilute as noted on C of A). Seal the plate and incubate at room temperature for 1 hour.
8. Aspirate/wash as in step 2. Repeat for a total of 3-5 washes**.
9. Add 100 μ L/well of Avidin-HRP* diluted in 1X ELISA/ELISPOT Diluent (dilute as noted on C of A). Seal the plate and incubate at room temperature for 30 minutes.
10. Aspirate and wash as in step 2. In this wash step, soak wells in Wash Buffer* for 1 to 2 minutes prior to aspiration. Repeat for a total of 5-7 washes**.
11. Add 100 μ L/well of 1X TMB Solution to each well. Incubate plate at room temperature for 15 minutes.
12. Add 50 μ L of Stop Solution to each well.
13. Read plate at 450 nm. If wavelength subtraction is available, subtract the values of 570 nm from those of 450 nm and analyze data.

NOTES:

*** Be certain that no sodium azide is present in the solutions used in this assay, as this inhibits HRP enzyme activity.**

****The number of washes in the protocol was adapted to an automatic plate washer. This can be decreased when using other methods but should be tested empirically. Allowing time for soaking (~ 1 minute) during each wash step increases the effectiveness of the washes.**

Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA)

Research Use Only

Quick Guide: Standard Calibration

The following table indicates the protein standard contained in the Ready-SET-Go! is calibrated against NIBSC standards.

Table of Standard Calibration				
Cytokine	ng of eB standard	ng of NIBSC standard	U of NIBSC standard	NIBSC Lot #
hIL-2	1	1.1	14.6	86/564
hIL-4	1	2.2	22	88/656
hIL-5	1	2.2	22	90/586
hIL-6	1	1.7	170	89/548
hIL-8	1	1.8	180	89/520
hIL-10	1	0.8	4	93/722
hIL-12	1	0.8	8	95/544
hIL-17A	1	0.9	9000	01/420
hIFN-g	1	1.1	22	87/586
hTNF-a	1	0.9	36	87/650
mIL-2	1	3.1	310	93/566
mIL-4	1	3	30	91/656
mIL-6	1	8.5	850	93/730
mIFN-g*	1		4.5	Gg02-901-533
mTNF-a	1	1.7	340	88/532

* Mouse IFN-g is calibrated using NIH standard (Lot Gg02-901-533) and is measured in Units (U)

ELISA Troubleshooting Guide

Problem	Possibility	Solution
A. High background	1. Improper and inefficient washing	1. Improve efficiency of washing. Fill plates completely, soak for 1 minute per wash, as directed
	2. Cross contamination from other specimens or positive control	2. Repeat ELISA being careful when washing and pipetting
	3. Contaminated substrate	3. Substrate should be colorless. Replace
	4. Incorrect dilutions, e.g., conjugate concentration was too high	4. Repeat using correct dilutions
B. No signal	1. Improper, low protein binding capacity plates were used	1. Repeat ELISA using recommended high binding capacity plates
	2. Wrong substrate was used	2. Repeat ELISA using the correct substrate
	3. Enzyme inhibitor present in buffers; e.g., sodium azide in the washing buffer and Assay Diluent inhibits	3. Repeat ELISA making no enzyme inhibitor is present in any buffers.

Not for further distribution without written consent.

Copyright © 2000-2014 Affymetrix, eBioscience

Tel: 888.999.1371 or 858.642.2058 • Fax: 858.642.2046 • www.ebioscience.com •

info@ebioscience.com

Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA)

Research Use Only

	peroxidase activity	
	4. Coated capture antibody in ELISA/ELISPOT Diluent rather than Coating Buffer	4. Repeat ELISA using Coating Buffer contained in the set as the diluent for the capture antibody.
C. Very weak signal	1. Improper and inefficient washing	1. Make sure washing procedure is done correctly, with a soak time.
	2. Incorrect dilutions of standard	2. Follow recommendations of standard preparation exactly as written on the C of A
	3. Insufficient incubation time	3. Repeat ELISA following the protocol carefully for each step
	4. Incorrect storage of reagents	4. Store reagents at the correct temperature as indicated on the Technical Data Sheet. Freezing certain components will severely impact results. Do not re-use the standards.
	5. Wrong filter in ELISA reader was used	5. Use the correct wavelength setting
	6. Wrong plate used	6. Use the recommended Corning Costar 9018 or NUNC Maxisorp flat bottom 96 well plates
D. Variation amongst replicates	1. Improper and inefficient washing	1. Make sure washing procedure is done correctly; see C of A. Edge effects can be avoided by moving samples and standards in from the edge of the plate.
	2. Poor mixing of samples	2. Mix samples and reagents gently and equilibrate to proper temperature
	3. Plates not clean	3. Plates should be wiped on bottom before measuring absorbance
	4. Reagents have expired	4. Order a new Ready-Set-Go ELISA.



Human IL-2 Ready-SET-Go! ELISA (2nd Generation)

каталожен номер 88-7025

Чувствителност: 2 pg/ml

Стандартен обхват: 2 – 250 pg/ml

Съхранение: Китът се съхранява при 2-8 ° C, с изключение стандартите, който трябва да се съхраняват при по-малко от или равна на -70 ° C.

Компоненти на кита:

Capture антитяло - претитрирано, пречистено антитяло

Detection антитяло -Предварително титруван, биотин-конюгирано антитяло

Стандарти - Рекомбинантен протеин за генериране на стандартна крива и калибриране проби

10X Coating Buffer. - Буфер за обшивка на Capture антитялото

5X ELISA / ELISPOT разреждател - Буфер за блокиране и разреждане

откриващото антитяло и ензимът

Ензим - пре-титриран Avidin-HRP

Субстрат - 1X TMB Solution

Сертификат за анализ. ЛОТ-специфични указания за разреждане на антитела и стандарти

96-ямкова плака. Corning Costar 9018 (включена с продукта Cat. # "И приключва през наставки -22, -76, -86).

Работен протокол:

1. Инкубирайте Corning Costar 9018 (или Nunc Maxisorp®) ELISA плоча с 100 мкл / ямка на улавянето на антитела в 1X Coating Buffer (разрежда, както е отбелязано по C на A, която е включена в комплекта на реагент). Запечатайте плоча и се инкубират една нощ при 4 ° C.

2. Аспирирайте кладенци и мият три пъти с > 250 микролитра / Wash Buffer. Предоставяне на достатъчно време за по време на всеки етап на промиване чрез на кисване (~ 1 минута) увеличава ефективността на промиването. Blot плоча

върху абсорбираща хартия, за да отстраните остатъците от буфер.

3 Разреждете една част 5X ELISA / ELISPOT разредител с четири части DI вода. Блокиране на кладенци с 200 микролитра / 1X ELISA / ELISPOT разредител. Инкубира се при стайна температура в продължение на 1 час.

4. Аспирирайте и измийте най-малко един път с Wash Buffer.

5. Използването 1X ELISA / ELISPOT разредител, разреждете стандарти, както е отбелязано на С на А за да се подготви най-концентрацията на стандарта. Добавете 100 микролитра / ямка на горната стандартна концентрация към съответните кладенци. Извършване на 2-кратни серийни разреждания на топ стандарти да стандартната крива за общо 8 точки. Добавете 100 микролитра / ямка на вашите проби към съответните ямки. Запечатайте плоча и се инкубират при стайна температура в продължение на 2 часа (или една нощ при 4 ° C в продължение на максимална чувствителност).

6 Аспирирайте / измиване както в Етап 2 се повтаря за общо 3-5 измивания.

7 Добавете 100 микролитра / за откриване на антитела, разреден в 1X ELISA / ELISPOT разредител (разрежда, както е отбелязано по С на А). Запечатайте плоча и се инкубират при стайна температура за 1 час

8 Аспирирайте / измиване както в стъпка 2 Повторете за общо 3-5 измивания.

9. Добавете 100 микролитра / Avidin-HRP разреждана в 1X ELISA / ELISPOT разредител (разрежда, както е отбелязано по С на А). Запечатайте плоча и се инкубират при стайна температура за 30 минути.

10 Аспирирайте и измийте, както в стъпка 2 В този етап на промиване, накисва кладенци в Wash Buffer за 1 до 2 минути преди аспирация. Повторете за общо 5-7 измивания.

11. Прибавят се 100 uL / ямка от 1 x TMB разтвор към всяка ямка. Плочката се инкубира при стайна температура за 15 минути.

12. Добавете 50 uL стопиращ разтвор към всяка ямка.

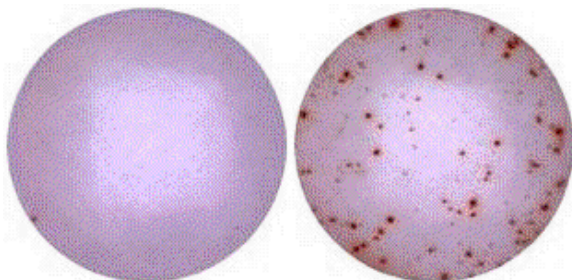
13. Премерете абсорбцията при 450 nm. Ако дължината на вълната изваждане е на разположение, се изважда стойността на 570 Nm от тези на 450 Nm и анализ на данни.

Human IFN gamma ELISPOT Ready-SET-Go![®]

Catalog Number: 88-7386

Also Known As: Interferon-gamma

RUO: For Research Use Only. Not for use in diagnostic procedures.



Normal human peripheral blood cells were activated with PMA/Ionomycin in human IFN gamma ELISPOT assay. Control well is medium alone.

Product Information


Contents: Human IFN gamma ELISPOT Ready-SET-Go![®]

REF **Catalog Number:** 88-7386

 **Temperature Limitation:** Store at 2-8°C.

LOT **Batch Code:** Refer to Vial

 **Use By:** Refer to Vial

 **Caution, contains Azide**

Description

This Human IFN gamma ELISPOT Ready-SET-Go! reagent set contains the necessary reagents for performing enzyme linked immunosorbent spot (ELISPOT) assays for high resolution frequency analysis of IFN gamma-secreting cells. This ELISPOT reagent set is pre-titrated for optimal spot development.

Components

Capture Antibody. Pre-titrated, Functional Grade (low endotoxin) purified antibody

Detection Antibody. Pre-titrated, biotin-conjugated antibody

ELISA/ELISPOT Coating Buffer This Ready-Set-Go! ELISPOT Set may contain ELISA/ELISPOT Coating Buffer Powder (Reconstitute to 1L with dH2O and filter (0.22 µM)) or 10X PBS ELISPOT Coating Buffer (Dilute 1 part 10X Buffer into 9 parts dH2O and filter with 0.22 µM).

5X ELISA/ELISPOT Diluent.

Enzyme. Pre-titrated Avidin-HRP

Certificate of Analysis. Lot-specific instructions for dilution of antibodies and enzyme

Not for further distribution without written consent.

Copyright © 2000-2012 eBioscience, Inc.

Tel: 888.999.1371 or 858.642.2058 • Fax: 858.642.2046 • www.eBioscience.com • info@eBioscience.com

ELISPOT Set Protocol

Research Use Only

Additional Materials Needed

- 96-Well PVDF Membrane ELISPOT Plates (Millipore, Cat. No. MAIPS4510)
- AEC (3-amino-9-ethyl carbazole) Substrate (Sigma, Cat. No. A-5754)
- Distilled water
- ELISPOT Wash Buffer: 1X PBS, with 0.05% Tween-20 (or eBioscience ELISA Wash Buffer Powder, cat 00-0400)

Instruments

- Pipettes and pipettors
- Refrigerator
- Incubator
- Laminar Flow Hood
- Plate Washer: Wash bottle or automated wash machine
- ELISPOT plate reader or dissecting microscope for visual inspection

Experiment Duration

- 1 overnight antibody incubation
- 1-2 day cell activation
- 3-5 hr washing, antibody incubation, color development

ELISPOT Method

Aseptic Procedure: (Use sterile buffers and aseptic conditions; use laminar flow hood for procedures.)

1. Dilute Functional Grade purified capture antibody in sterile ELISPOT Coating Buffer, as noted on Certificate of Analysis which is included with the reagent set. Coat ELISPOT plate with 100 µl/well of capture antibody solution. Incubate at 4°C overnight.
2. Decant or aspirate coating antibody from plate.
3. Wash plates 2 times with 200 µl/well sterile ELISPOT Coating Buffer. Decant.
4. Block plate with 200 µl/well of complete RPMI-1640 at room temperature for 1 hour. Decant or aspirate plate.
5. Aliquot mitogen, antigen or controls diluted in complete RPMI-1640 medium to appropriate wells at 100 µl/well. Aliquot cells at desired densities (e.g., 1×10^5 /ml - 2×10^6 /ml) at 100 µl/well and incubate at 37°C, 5% CO₂ humidified incubator for 24-48 hours.

Note: Kinetics and cell densities vary with target cytokine, treatment, and cell type and must be empirically determined. See references. Cells can be diluted in a sterile tissue culture plate starting at 2×10^6 /well in triplicate wells with a series of 1:3 or 1:4 serial dilutions down the plate, and then transferred to the ELISPOT plate.

ELISPOT Set Protocol

Research Use Only

Non-Aseptic Procedure:

1. Decant cells and medium from plates. Wash plate 3 times with ELISPOT Wash Buffer.
2. Dilute biotinylated detection antibody in Assay Diluent according to instructions on the Certificate of Analysis provided with the reagent set. Add 100 μ l/well to plate microwells and incubate at room temperature for 2 hr (or 4°C overnight).
3. Decant antibody solution. Wash 4 times with ELISPOT Wash Buffer. Allow wells to soak for 1 minute for each wash.
4. Dilute Avidin-HRP reagent in Assay Diluent according to instructions on the Certificate of Analysis provided with the reagent set. Add 100 μ l/well of Avidin-HRP and incubate at room temperature for 45 minutes.
5. Decant Avidin-HRP solution. Wash plate 3 times with ELISPOT Wash Buffer, and then 2 times with 1X PBS (no Tween-20).
6. Add 100 μ l/well of freshly-prepared AEC Substrate Solution and develop at room temperature for 10-60 minutes; monitor development of spots.
7. Stop the substrate reaction by washing wells 3 times with 200 μ l/well distilled water.
8. Air-dry the plate. Count spots using a dissecting microscope or automated ELISPOT plate reader. Store plates in the dark prior to reading.

Cytokine ELISPOT Buffers

- ELISA/ELISPOT Coating Buffer Powder
 - Reconstitute powder to 1 L in dH₂O; filter sterilize using a 0.22 μ M filter
- Complete RPMI-1640:
 - RPMI-1640 with 10% FBS and 1% Pen/Strep/L-Glu
- Assay Diluent (supplied as 5X):
 - Dilute 5X solution to 1X in DI H₂O
- ELISPOT Wash Buffer:
 - 1X PBS with 0.05% Tween-20 (0.5 ml Tween-20 in 1 L PBS) or eBioscience ELISA Wash Buffer Powder (Cat # 00-0400)
- 1X PBS:
 - 80.0 g NaCl
 - 11.6 g Na₂HPO₂
 - 2.0 g KH₂PO₄
 - 2.0 g KCl
 - Qs with DI H₂O up to 10.0 L, pH to 7.0

ELISPOT Set Protocol

Research Use Only

- AEC (3-amino-9-ethyl carbazole) Substrate Solution:
 - AEC Stock Solution: Dissolve 100 mg of AEC in 10 ml of N,N Dimethylformamide (DMF; Pierce, Cat. No. 20672)
 - Add 333 µl of AEC Stock Solution to 10 ml of 0.1 M Acetate Solution (pH 5.0) (see below for recipe). Filter through a 0.45 µm filter.
 - Just before use, add 5 µl of 30% H₂O₂. Mix and use immediately.

- 0.1 M Acetate Solution (pH 5.0):
 - Combine 148 ml 0.2 M acetic acid (11.55 ml glacial acetic acid per 1 L dH₂O) with 352 ml 0.2 M sodium acetate (27.2 g sodium acetate per 1 L dH₂O).
 - Qs to 1 L with dH₂O. Adjust pH to 5.0.

Selected References

1. Gebauer BS, et al. 2002. Evolution of the enzyme-linked immunosorbent spot assay for post-transplant alloreactivity as a potentially useful immune monitoring tool. *Am. J. Transplant.* 9: 857-866.
2. Guerkov RE, et al. 2003. Detection of low-frequency antigen-specific IL-10-producing CD4(+) T cells via ELISPOT in PBMC: cognate vs. nonspecific production of the cytokine. *J. Immunol. Methods.* 279: 111-121.
3. Kreher CR, et al. 2003. CD4+ and CD8+ cells in cryopreserved human PBMC maintain full functionality in cytokine ELISPOT assays. *J. Immunol. Methods.* 278: 79-93.
4. Ott PA, et al. 2004. CD28 costimulation enhances the sensitivity of the ELISPOT assay for detection of antigen-specific memory effector CD4 and CD8 cell populations in human diseases. *J. Immunol. Methods.* 285: 223-235.
5. Smith JG, et al. 2001. Development and validation of a gamma interferon ELISPOT assay for quantitation of cellular immune responses to varicella-zoster virus. *Clin. Diag. Lab. Immunol.* 8: 871-879.
6. Shafer-Weaver K, et al. 2003. The Granzyme B ELISPOT assay: an alternative to the 51Cr-release assay for monitoring cell-mediated cytotoxicity. *J. Translational. Med.* 1: 14.
7. Rininsland F, et al. 2000. Granzyme B ELISPOT assay for ex vivo measurements of T cell immunity. *J. Immunol. Meth.* 240:143-155.



Human IFN gamma ELISPOT Ready-SET-Go!®
каталожен номер **88-7386**

Съхранение: Китът се съхранява при 2-8 ° C

Компаненти на кита:

Capture антитяло - претитрирано, пречистено антитяло

Detection антитяло -Предварително титруван, биотин-конюгирано антитяло

ELISA/ELISPOT Coating Buffer. - Буфер за обшивка на Capture антитялото

ELISA/ELISPOT Дилуент – 5X концентриран

Детектиращ Ензим - пре-титриран Avidin-HRP

Субстрат - 1X TMB Solution

Сертификат за анализ. ЛОТ-специфични указания за разреждане на антитела и стандарти

Необходими допълнителни материали:

96-Well PVDF Membrane ELISPOT плаки

АЕС (3-amino-9-ethyl carbazole) Субстрат - *AEC Solution: Разтварят се 100 мг на АЕС в 10 мл N, N-диметилформамид. Добави 333 мкл АЕС наличност в разтвор на 10 мл от 0.1 М ацетатен разтвор (pH 5.0) (виж по-долу за рецепта). Филтрира се през 0.45 µm филтър. Точно преди употреба, се добавят 5 мкл от 30% H₂O₂. Разбърква се и се използва веднага.*

Дистилирана вода

ELISPOT Миещ буфер: 1X PBS, with 0.05% Tween-20

ELISPOT Работен протокол:

1. Декантирайте клетки и носител от плочи. Плочката се промива 3 пъти с ELISPOT Wash Buffer.
2. Разрежете биотинилирана откриване на антитела в разредител за анализ в съответствие с инструкциите на сертификат за анализ, снабдени с комплект за реагент. Добавяне на 100 µl / ямка на плочата микроямки и се инкубира при стайна температура в продължение на 2 часа (или 4 ° C за една нощ).
3. Разтвор се прелива антитяло. Промива се 4 пъти с ELISPOT Wash Buffer. Позволете кладенци да кисне в продължение на 1 минута за всяко измиване.

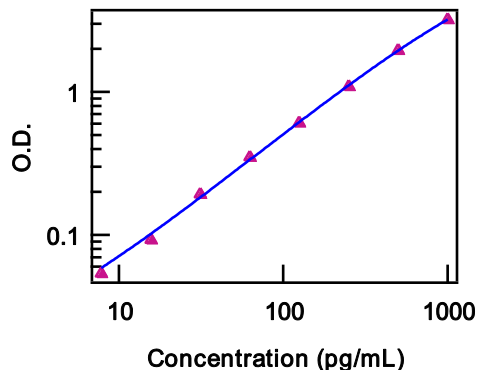
4. Разрежете Avidin-HRP реагент в разрежител за анализ в съответствие с инструкциите на сертификат за анализ, снабдени с комплект за реагент. Добавят се 100 μ l / ямка от авидин-HRP и се инкубира при стайна температура за 45 минути.
5. Разтвор се прелива авидин-HRP. Плочката се промива 3 пъти с ELISPOT промивен буфер и след това 2 пъти с 1 x PBS (без Tween-20).
6. Добавете 100 микролитра / на прясно приготвена AEC Substrate Solution и се проявява при стайна температура в продължение на 10-60 минути; следи развитието на петна.
7. Избистрете субстрата чрез промиване ямките 3 пъти с 200 μ l / ямка дестилирана вода.
8. Въздушно изсъхване на плочата. Брой места с помощта на микроскоп или автоматизирано ELISPOT четец на плаки. Записани плочи в тъмно преди четене.

Human/Mouse TGF beta 1 ELISA Ready-SET-Go! (2nd Generation)

Catalog Number: 88-8350

Also known as: Transforming Growth Factor beta 1, TGF- β 1

RUO: For Research Use Only. Not for use in diagnostic procedures.



Standard curve of Human/Mouse TGF beta 1 ELISA Ready-SET-Go!

Product Information

Contents: Human/Mouse TGF beta 1 ELISA Ready-SET-Go! (2nd Generation)

REF **Catalog Number:** 88-8350

Sensitivity: 8 pg/mL

Standard Curve Range: 1000-8 pg/mL



Temperature Limitation: Store at 2-8°C except standard which should be stored at less than or equal to -70°C.



Batch Code: Refer to vial



Use By: Refer to vial

Description

This Human/Mouse TGF beta 1 Ready-SET-Go! ELISA Set contains the necessary reagents, standards, buffers and diluents for performing quantitative enzyme-linked immunosorbent assays (ELISA). This ELISA set is specifically engineered for accurate and precise measurement of human or mouse TGF beta 1 protein levels from samples including serum, plasma, and supernatants from cell cultures. This second generation kit has increased sensitivity with a range of 8-1000 pg/mL.

Transforming Growth Factor beta (TGF beta) is a pleiotropic cytokine which exists in five isoforms, known as TGF beta 1-5, with homologies of 70-80% and no homology to TGF alpha. TGF beta 1 is the most abundant isoform and is ubiquitously expressed, while other isoforms are expressed in a more restricted manner. TGF beta 1 is highly conserved, with 100% sequence homology between the human, simian, bovine, porcine, and chicken proteins and 99% homology between the human and murine proteins. It is highly expressed in platelets and also produced by macrophages, lymphocytes, endothelial cells, chondrocytes, and leukemic cells.

TGF beta 1 is synthesized as a long precursor polypeptide, which is cleaved to yield the mature protein and the Latency Associated Peptide (LAP). LAP and mature TGF beta 1 remain non-covalently associated through secretion, forming homodimers known as the Small Latent Complex (SLC). Secretion can be induced by steroids, retinoids, EGF, NGF, vitamin D3, and IL-1. The bioactivity of mature TGF beta 1 is dependent on its release from LAP by conformational changes and proteolytic processing. Its activities include inhibition of cell growth in epithelial cells, endothelial cells, fibroblasts, neurons, lymphoid cells, and other hematopoietic cell types. TGF beta 1 also inhibits the proliferation of T cells and NK cells, downregulates the activities of activated macrophages, and blocks the anti-tumor activity of IL-2 – bearing lymphokine-activated killer (LAK) cells. Recently, TGF beta 1 has been found to have a critical role in the development of regulatory T cells and act as a costimulatory factor for expression of Foxp3. Dendritic cells exposed to tumors have been reported to secrete TGF beta 1 and stimulate the differentiation of CD4+CD25+ Treg cells from peripheral CD4+CD25- progeny. TGF beta 1-induced regulatory T cells have been termed iTreg.

Components

Capture Antibody. Pre-titrated, purified antibody

Not for further distribution without written consent.

Copyright © 2000-2012 eBioscience, Inc.

Tel: 888.999.1371 or 858.642.2058 • Fax: 858.642.2046 • www.ebioscience.com •
info@ebioscience.com

Human/Mouse TGF beta 1 ELISA Ready-SET-Go! (2nd Generation)

Catalog Number: 88-8350

Also known as: Transforming Growth Factor beta 1, TGF- β 1

RUO: For Research Use Only. Not for use in diagnostic procedures.

Detection Antibody. Pre-titrated, biotin-conjugated antibody

Standard. Recombinant cytokine for generating standard curve and calibrating samples

Coating Buffer. 10X PBS ELISA Coating Buffer

Assay Diluent. 5X Concentrated

Detection Enzyme. Pre-titrated Avidin-HRP

Substrate Solution. Tetramethylbenzidine (TMB) Solution

Certificate of Analysis. Lot-specific instructions for dilution of antibodies and standards.

96-well Plates. Corning Costar flat-bottom plates (included with Cat. #s ending in -22, -76, and -86)

Applications Reported

This ELISA set is for the quantitative detection of human and mouse TGF beta 1 in serum, plasma, and tissue culture supernatant samples.

Applications Tested

The Human/Mouse TGF beta 1 ELISA (2nd Generation) recognizes the mature/active form of TGF beta 1 without association with Latency Associated Peptide (LAP). Most samples will require acid-treatment and neutralization to remove LAP from TGF beta 1 prior to evaluation in this assay. Samples should be tested in the assay immediately after acid treatment and neutralization. It is also possible that some serum and plasma samples may contain low levels of immunoreactive TGF beta 1 that has disassociated from LAP. Naturally occurring, free TGF beta 1 may be measurable in this assay by evaluating samples without acid treatment. See the "Experimental Procedure" section of the protocol.

The 5X ELISA Diluent provided in this assay contains 10% Fetal Bovine Serum (FBS) when diluted to its working concentration. FBS is a natural source of bovine TGF beta 1, which is detectable in this ELISA. It is recommended that a sample of prepared 1X ELISA Diluent be acidified and neutralized, as described in the "Experimental Procedure" section of the protocol, then run in the ELISA to quantify basal levels of bovine TGF beta 1 present in the diluent. This value can be subtracted from any samples diluted in this buffer after analysis. When testing tissue culture supernatants, it is also recommended that the user run a similar control if the cells will be cultured in medium prepared with FBS. Please use 1X ELISA Diluent that has not been treated with acid for diluting any samples for running in this ELISA.

This assay was validated for the detection of endogenous human TGF beta 1 using supernatant collected from a culture of normal peripheral blood monocytes stimulated using Cell stimulation Cocktail (500X) (cat. 00-4970) that contains PMA and ionomycin. Detection of endogenous mouse protein was tested using supernatant from a culture of splenocytes stimulated in the same manner. Due to high circulating levels of TGF beta 1 present in normal donors, it is recommended that acid-treated serum and plasma samples be diluted at least 5-fold prior to evaluation in this assay. This dilution is not required if measurement of naturally occurring free TGF beta 1 is desired, as those levels will be much lower.

This assay was evaluated for specificity on a panel of 72 recombinant cytokines at 100 ng/mL. At this concentration, 0.1% cross-reactivity to human TGF beta 2 was observed, with none to TGF beta 3 or any other cytokines on the panel.

References

Fantini MC, Becker C, Tubbe I, Nikolaev A, Lehr HA, Galle P, Neurath MF. TGF- β – induced Foxp3+ regulatory T cells suppress Th1-mediated experimental colitis. *Gut*. 2006 May;55(5):671-80.

Peng Y, Laouar Y, Li MO, Green EA, Flavell RA. TGF- β regulates in vivo expansion of Foxp3-expressing CD4+CD25+ regulatory T cells responsible for protection against diabetes. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2004 Mar 30;101(13):4572-7.

Not for further distribution without written consent.

Copyright © 2000-2012 eBioscience, Inc.

Tel: 888.999.1371 or 858.642.2058 • Fax: 858.642.2046 • www.ebioscience.com •
info@ebioscience.com

Human/Mouse TGF beta 1 ELISA Ready-SET-Go! (2nd Generation)

Catalog Number: 88-8350

Also known as: Transforming Growth Factor beta 1, TGF-b1

RUO: For Research Use Only. Not for use in diagnostic procedures.

Roberts AB, Sporn MB. Physiological actions and clinical applications of transforming growth factor-beta (TGF-beta). Growth Factors. 1993;8(1):1-9.

Miyazono K, Heldin CH. Structure, function and possible clinical application of transforming growth factor-beta. J Dermatol. 1992 Nov;19(11):644-7

Related Products

00-4970 Cell Stimulation Cocktail (500X)

BMS249/2INST* Human TGF-beta 1 Instant ELISA

BMS249/3* Human TGF-beta1 Platinum ELISA

BMS8249FF* Human TGF-beta1 FlowCytomix Simplex

BMS8608FF* Mouse TGF-beta1 FlowCytomix Simplex

Not for further distribution without written consent.

Copyright © 2000-2012 eBioscience, Inc.

Tel: 888.999.1371 or 858.642.2058 • Fax: 858.642.2046 • www.ebioscience.com •
info@ebioscience.com

TDS Protocol

Research Use Only

Other Materials Needed

- ☐ Solutions for activating samples (not needed for standards)

- 1 N HCl
- 1 N NaOH

- ☐ Buffers

- Wash Buffer: 1 x PBS, 0.05% Tween-20
- Stop Solution: 1M H₃PO₄ or 2N H₂SO₄

- ☐ Pipettes and pipettors

- ☐ Refrigerator

- ☐ 96-well plate (Corning Costar 9018 or NUNC Maxisorp flat-bottom)

NOTE: The use of ELISA plates which are not high affinity protein binding plates will result in suboptimal performance, e.g., low signal or inconsistent data. Do not use tissue culture plates or low protein absorption plates. Use only the Corning Costar 9018 or NUNC Maxisorp 96 well plates provided or suggested.

- ☐ 96-well ELISA plate reader (microplate spectrophotometer)

- ☐ ELISA plate washer

NOTE: To ensure optimal results from this ELISA Ready-SET-Go! Set, please only use the components included in the set. Exchanging of components is not recommended as a change in signal may occur.

Stability

This ELISA set is guaranteed to perform as specified at least 12 months from date of receipt if stored and handled as instructed according to this datasheet and the Certificate of Analysis, which is included with the reagents.

Storage Instructions

The frozen cytokine standard is already aliquoted at 20 µl per vial. Upon receipt, frozen cytokine standard should be immediately stored at -80°C; stable for at least 12 months. After thawing, quick-spin vial prior to opening. Do not re-aliquot into smaller fractions. These are single use vials. Use one time and discard. For dilution of the standard, please see instructions on the Certificate of Analysis and follow these as written. All other set components should be stored at 2-8°C.

Time Requirements

- ☐ 1 overnight incubation
- ☐ 4½-hour incubations
- ☐ 1 hour washing and analyzing samples

TDS Protocol

Research Use Only

Experimental Procedure



1. Coat Corning Costar 9018 or NUNC Maxisorp 96 well ELISA plate with 100 μ l/well of capture antibody in Coating Buffer (dilute as noted on Certificate of Analysis, which is included with the reagent set). Seal the plate and incubate overnight at 4°C.
2. Aspirate wells and wash 5 times with >250 μ l/well Wash Buffer* (diluted to 1X). Allowing time for soaking (~ 1 minute) during each wash step increases the effectiveness of the washes. Blot plate on absorbent paper to remove any residual buffer.
3. Dilute 1 part 5X concentrated Assay Diluent with 4 parts DI water.* Block wells with 200 μ l/well of 1X Assay Diluent. Incubate at room temperature for 1 hour.
4. Aspirate/wash as in step 2. Repeat for a total of 5 washes.
5. Acid Activation of Samples: To activate latent TGF- β 1 to the immunoreactive form, the samples (but not standards) must be acidified, and then neutralized. Animal serum used in culture media may contain high levels of latent TGF- β 1, so controls should be run to determine baseline concentrations of TGF- β 1 in culture media.
 1. Tissue culture supernatants: Per 100 μ l of sample, add 20 μ l of 1N HCl; incubate 10 minutes at room temperature, then neutralize with 20 μ l of 1N NaOH. [When calculating final sample concentration, correct to the dilution factor of 1.4.]
 2. Serum or plasma: Dilute 1:5 in PBS*, then treat as above for supernatants.
6. Using Assay Diluent*, dilute standards as noted on the Certificate of Analysis (C of A). Add 100 μ l/well of standard to the appropriate wells. Perform 2-fold serial dilutions of the top standards to make the standard curve. Add 100 μ l/well of your acid-activated samples to the appropriate wells. Cover or seal the plate and incubate at room temperature for 2 hours (or overnight at 4°C for maximal sensitivity).
7. Aspirate/wash as in step 2. Repeat for a total of 5 washes.
8. Add 100 μ l/well of detection antibody diluted in 1X Assay Diluent* (dilute as noted on C of A). Seal the plate and incubate at room temperature for 1 hour.
9. Aspirate/wash as in step 2. Repeat for a total of 5 washes.
10. Add 100 μ l/well of Avidin-HRP* diluted in 1X Assay Diluent (dilute as noted on C of A). Seal the plate and incubate at room temperature for 30 minutes.
11. Aspirate and wash as in step 2. In this wash step, soak wells in Wash Buffer* for 1 to 2 minutes prior to aspiration. Repeat for a total of 7 washes.
12. Add 100 μ l/well of Substrate Solution to each well. Incubate plate at room temperature for 15 minutes.
13. Add 50 μ l of Stop Solution to each well.
14. Read plate at 450 nm. If wavelength subtraction is available, subtract the values of 570 nm from those of 450 nm and analyze data.

***NOTE: Be certain that no sodium azide is present in any of the solutions used in this assay, as this inhibits HRP enzyme activity.**

TDS Protocol

Research Use Only

Ready-SET-Go Cytokine ELISA Set Buffers:

-  Assay Diluent (5X concentrate): Dilute 1/5 in DI water.
-  Substrate Solution: Ready to use (1X); 100 µl per well.

Standard Calibration

The standard of the Ready-SET-Go! is calibrated against NIBSC standards:

Table of Standard Calibration				
Cytokine	ng of eB standard	ng of NIBSC standard	U of NIBSC standard	NIBSC Lot #
hIL-2	1	1.1	14.6	86/564
hIL-4	1	2.2	22	88/656
hIL-5	1	2.2	22	90/586
hIL-6	1	1.7	170	89/548
hIL-10	1	0.8	4	93/722
hIL-12	1	0.8	8	95/544
hIFN-g	1	1.1	22	87/586
hTNF-a	1	0.9	36	87/650
mIL-2	1	3.1	310	93/566
mIL-4	1	3	30	91/656
mIL-6	1	8.5	850	93/730
mIFN-g*	1		4.5	Gg02-901-533
mTNF-a	1	1.7	340	88/532

* Mouse IFN-g is calibrated using NIH standard (Lot Gg02-901-533) and is measured in Units (U)

ELISA Troubleshooting Guide		
Problem	Possibility	Solution
A. High Background	1. Improper and inefficient washing	1. Improve efficiency of washing. Fill plates completely, soak for 1 minute per wash, as directed
	2. Cross contamination from other specimens or positive control	2. Repeat ELISA, be careful when washing and pipetting
	3. Contaminated substrate	3. Substrate should be colorless
	4. Incorrect dilutions, e.g., conjugate concentration was too high	4. Repeat test using correct dilutions; check with the recommendations of the antibody manufacturer
B. No signal	1. Improper, low protein binding capacity plates were	1. Repeat ELISA, using recommended high binding

Revised 11-24-2009

Provided as a courtesy by eBioscience, Inc. Copyright © 2000-2009 eBioscience, Inc.

Tel: 888.999.1371 or 858.642.2058 • Fax: 858.642.2046 • www.ebioscience.com • info@ebioscience.com

TDS Protocol

Research Use Only

	used	capacity plates
	2. Wrong substrate was used	2. Repeat ELISA, use the correct substrate
	3. Enzyme inhibitor present in buffers; e.g., sodium azide in the washing buffer and Assay Diluent inhibits peroxidase activity	3. Repeat ELISA, make sure your system contains no enzyme inhibitor
C. Very weak signal	1. Improper and inefficient washing	1. Make sure washing procedure is done correctly
	2. Incorrect dilutions of standard	2. Follow recommendations of standard handling exactly as written on the certificate of analysis
	3. Insufficient incubation time	3. Repeat ELISA, follow the protocol carefully for each step's incubation time
	4. Incorrect storage of reagents	4. Store reagents in the correct temperature, avoid freeze and thaw, avoid using the "frost free" freezer
	5. Wrong filter in ELISA reader was used	5. Use the correct wavelength setting
	6. Wrong plate used	6. Use the recommended Corning Costar 9018 or NUNC Maxisorp flat bottom 96 well plates
D. Variation amongst replicates	1. Improper and inefficient washing	1. Make sure washing procedure is done correctly; see certificate of analysis
	2. Poor mixing of samples	2. Mix samples and reagents gently and equilibrate to proper temperature
	3. Plates not clean	3. Plates should be wiped on bottom before measuring absorbance
	4. Improper, low binding capacity plates were used	4. Use recommended high binding capacity plates
	5. Reagents have expired	5. Do not use if past expiration date



Human/Mouse TGF beta 1 ELISA Ready-SET-Go! (2nd Generation)
каталожен номер 88-8350

Чувствителност: 8 pg/ml

Стандартен обхват: 8 – 1000 pg/ml

Съхранение: Китът се съхранява при 2-8 ° C, с изключение стандартите, който трябва да се съхраняват при по-малко от или равна на -70 ° C.

Компаненти на кита:

Capture антитяло - претитрирано, пречистено антитяло

Detection антитяло -Предварително титруван, биотин-конюгирано антитяло

Стандарти - Рекомбинантен протеин за генериране на стандартна крива и калибриране проби

10X Coating Buffer. - Буфер за обшивка на Capture антитялото

Дилуент – 5X концентриран

Детектиращ Ензим - пре-титриран Avidin-HRP

Субстрат - 1X TMB Solution

Сертификат за анализ. ЛОТ-специфични указания за разреждане на антитела и стандарти

96-ямкова плака. Corning Costar 9018 (включена с продукта Cat. # "И приключва през наставки -22, -76, -86).

Работен протокол:

1. Инкубирайте Corning Costar 9018 (или Nunc Maxisorp®) ELISA плоча с 100 мкл / ямка на улавянето на антитела в 1X Coating Buffer (разрежда, както е отбелязано по C на A, която е включена в комплекта на реагент). Запечатайте плоча и се инкубират една нощ при 4 ° C.

2. Аспирирайте кладенци и мият три пъти с > 250 микролитра / Wash Buffer. Предоставяне на достатъчно време за по време на всеки етап на промиване чрез наkisване (~ 1 минута) увеличава ефективността на промиването. Blot плоча

върху абсорбираща хартия, за да отстраните остатъците от буфер.

3 Разредете една част 5X ELISA / ELISPOT разредител с четири части DI вода. Блокиране на кладенци с 200 микролитра / 1X ELISA / ELISPOT разредител. Инкубира се при стайна температура в продължение на 1 час.

4. Аспирирайте и измийте най-малко един път с Wash Buffer.

Киселино активиране на проби: За активиране на латентен TGF-SS1 на имунореактивен формата, пробите (но не стандарти) трябва да се подкислява и след това се неутрализира. Серум на животните, използвани в областта на културата медии могат да съдържат високи нива на латентен TGF-SS1, така контроли трябва да се провеждат, за да се определи базовите концентрации на TGF-SS1 в културална среда.

А. тъканна култура супернатанти: на 100 мкл от пробата се добавят 20 мкл от 1N солна киселина; инкубира 10 минути при стайна температура, след това се неутрализира с 20 ул от 1N NaOH. [При изчисляване на крайна концентрация на пробата, правилно да се коефициентът на разреждане на 1.4.]

Б. серум или плазма: Разредете 1: 5 в PBS, след това лечение, както по-горе за повърхностни слоеве.

5. Използването 1X ELISA / ELISPOT разредител, разредете стандарти, както е отбелязано на С на А за да се подготви най-концентрацията на стандарта. Добавете 100 микролитра / ямка на горната стандартна концентрация към съответните кладенци. Извършване на 2-кратни серийни разреждания на топ стандарти да стандартната крива за общо 8 точки. Добавете 100 микролитра / ямка на вашите проби към съответните ямки. Запечатайте плоча и се инкубират при стайна температура в продължение на 2 часа (или една нощ при 4 ° C в продължение на максимална чувствителност).

6 Аспирирайте / измиване както в Етап 2 се повтаря за общо 3-5 измивания.

7 Добавете 100 микролитра / за откриване на антитела, разреден в дилуента (разрежда се, както е отбелязано по С на А). Запечатайте плоча и се инкубират при стайна температура за 1 час

8 Аспирирайте / измиване както в стъпка 2 Повторете за общо 3-5 измивания.

9. Добавете 100 микролитра / Avidin-HRP разрежена в дилуента (разрежда, както е отбелязано по С на А). Запечатайте плоча и се инкубират при стайна температура за 30 минути.

10 Аспирирайте и измийте, както в стъпка 2 В този етап на промиване, накисва кладенци в Wash Buffer за 1 до 2 минути преди аспирация. Повторете за общо 5-

7 измивания.

11. Прибавят се 100 μ L / ямка от 1 x TMB разтвор към всяка ямка. Плочката се инкубира при стайна температура за 15 минути.

12. Добавете 50 μ l стопиращ разтвор към всяка ямка.

13. Премерете абсорбцията при 450 нм. Ако дължината на вълната изваждане е на разположение, се изважда стойността на 570 Нм от тези на 450 Нм и анализ на данни.

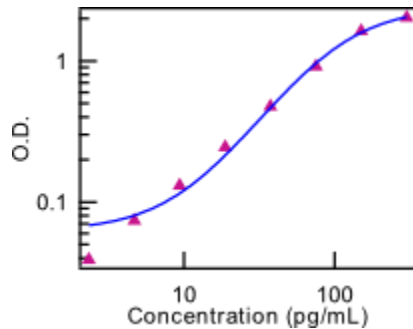
Table of Standard Calibration				
Cytokine	ng of eB standard	ng of NIBSC standard	U of NIBSC standard	NIBSC Lot #
hIL-2	1	1.1	14.6	86/564
hIL-4	1	2.2	22	88/656
hIL-5	1	2.2	22	90/586
hIL-6	1	1.7	170	89/548
hIL-10	1	0.8	4	93/722
hIL-12	1	0.8	8	95/544
hIFN-g	1	1.1	22	87/586
hTNF-a	1	0.9	36	87/650
mIL-2	1	3.1	310	93/566
mIL-4	1	3	30	91/656
mIL-6	1	8.5	850	93/730
mIFN-g*	1		4.5	Gg02-901-533
mTNF-a	1	1.7	340	88/532

Human IL-10 ELISA Ready-SET-Go![®]

Catalog Number: 88-7106

Also known as: Interleukin-10

RUO: For Research Use Only. Not for use in diagnostic procedures.



Standard curve of Human IL-10 ELISA Ready-SET-Go![®]

Product Information

Contents: Human IL-10 ELISA Ready-SET-Go![®]

REF **Catalog Number:** 88-7106

Sensitivity: 2 pg/mL

Standard Curve Range: 2 - 300 pg/mL



Temperature Limitation: Store at 2-8°C.

Batch Code: Refer to vial

Use By: Refer to vial

Description

This Human IL-10 ELISA Ready-SET-Go! reagent set (with or without high-affinity binding microwell plates) contains the necessary reagents, buffers and diluents for performing quantitative enzyme linked immunosorbent assays (ELISA). This ELISA reagent set is specifically engineered for accurate and precise measurement of human IL-10 protein levels from samples including serum, plasma, and supernatants from cell cultures.

Components

Capture Antibody. Pre-titrated, purified antibody

Detection Antibody. Pre-titrated, biotin-conjugated antibody

Standard. Recombinant cytokine for generating standard curve and calibrating samples

ELISA/ELISPOT Coating Buffer Powder. This Ready-Set-Go! ELISA Set may contain ELISA/ELISPOT Coating Buffer Powder (Reconstitute to 1L with dH2O and filter (0.22 µM)) or 10X PBS ELISA Coating Buffer (Dilute 1 part 10X Buffer into 9 parts dH2O).

Assay Diluent. 5X concentrated

Detection enzyme. Pre-titrated Avidin-HRP

Substrate Solution. Tetramethylbenzidine (TMB) Substrate Solution

Certificate of Analysis. Lot-specific instructions for dilution of antibodies and standards

96 Well Plate. Corning Costar 9018 (included with product Cat. #'s ending in suffixes -22, -44, -76, -86)

References

Atégbo JM, Grissa O, Yessoufou A, Hichami A, Dramane KL, Moutairou K, Miled A, Grissa A, Jerbi M, Tabka Z, Khan NA. Modulation of adipokines and cytokines in gestational diabetes and macrosomia. *J Clin Endocrinol Metab.* 2006 Oct;91(10):4137-43. (RSG ELISA, **serum**, PubMed)

Sendide K, Deghmane AE, Pechkovsky D, Av-Gay Y, Talal A, Hmama Z. Mycobacterium bovis BCG attenuates surface expression of mature class II molecules through IL-10-dependent inhibition of cathepsin S. *J Immunol.* 2005 Oct 15;175(8):5324-32. (RSG ELISA, **TC sup**, PubMed)

Xu LG, Wu M, Hu J, Zhai Z, Shu HB. Identification of downstream genes up-regulated by the tumor necrosis factor family member TALL-1. *J Leukoc Biol.* 2002 Aug;72(2):410-6. (RSG ELISA, **TC sup**, PubMed)

Not for further distribution without written consent.

Copyright © 2000-2012 eBioscience, Inc.

Tel: 888.999.1371 or 858.642.2058 • Fax: 858.642.2046 • www.ebioscience.com •
info@ebioscience.com

Human IL-10 ELISA Ready-SET-Go![®]

Catalog Number: 88-7106

Also known as: Interleukin-10

RUO: For Research Use Only. Not for use in diagnostic procedures.

Not for further distribution without written consent.

Copyright © 2000-2012 eBioscience, Inc.

Tel: 888.999.1371 or 858.642.2058 • Fax: 858.642.2046 • www.ebioscience.com •
info@ebioscience.com

Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA)

Research Use Only

Protocol: ELISA Ready-Set-Go!

The following protocol is a general guideline for the Ready-SET-Go! Sets

Materials Provided

- Please refer to the Certificate of Analysis (C of A) for components

Other Materials Needed

- Buffers*
 - Wash Buffer: 1x PBS, 0.05% Tween-20 (or eBioscience ELISA Wash Buffer Powder, Cat. No. 00-0400)
 - Stop Solution: 1M H₃PO₄ (recommended) or 2N H₂SO₄
- Pipettes
- Refrigerator & frost-free -20°C freezer
- 96-well plate (Corning Costar 9018 or NUNC Maxisorp®)
NOTE: The use of ELISA plates which are not high affinity protein binding plates will result in suboptimal performance, e.g., low signal or inconsistent data. Do not use tissue culture plates or low protein absorption plates. Use only the Corning Costar 9018 or NUNC Maxisorp (Cat. No. 44-2404) 96-well plates
- 96-well ELISA plate reader (microplate spectrophotometer)
- ELISA plate washer (highly recommended)

NOTE: To ensure optimal results from this ELISA Ready-SET-Go! Set, please only use the components included in the set. Exchanging of components is not recommended as a change in signal may occur.

Time Requirements

- 1 overnight incubation
- 4½-hour incubations
- 1 hour washing and analyzing samples

Experimental Procedure

1. Coat Corning Costar 9018 (or Nunc Maxisorp®) ELISA plate with 100 µL/well of capture antibody in 1X Coating Buffer (dilute as noted on C of A, which is included with the reagent set). Seal the plate and incubate overnight at 4°C.
2. Aspirate wells and wash 3 times with >250 µL/well Wash Buffer*. Allowing time for soaking (~ 1 minute) during each wash step increases the effectiveness of the washes. Blot plate on absorbent paper to remove any residual buffer.
3. Dilute 1 part 5X ELISA/ELISPOT Diluent with 4 parts DI water.* Block wells with 200 µL/well of 1X ELISA/ELISPOT Diluent. Incubate at room temperature for 1 hour.
4. Optional: Aspirate and wash at least once with Wash Buffer.
5. Using DI water, reconstitute lyophilized standards as noted on the C of A. Allow to sit for 15 minutes with gentle agitation prior to diluting further

Not for further distribution without written consent.

Copyright © 2000-2014 Affymetrix, eBioscience

Tel: 888.999.1371 or 858.642.2058 • Fax: 858.642.2046 • www.ebioscience.com •
info@ebioscience.com

Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA)

Research Use Only

6. Using 1X ELISA/ELISPOT Diluent*, dilute the reconstituted standard as noted on the C of A to prepare the top standard concentration. Add 100 μ L/well of top standard concentration to the appropriate wells. Perform 2-fold serial dilutions of the top standards to make the standard curve for a total of 8 points. Add 100 μ L/well of your samples to the appropriate wells. Include at least two wells with 100 μ L/well of 1X ELISA/ELISPOT Diluent only to serve as plate blanks. Seal the plate and incubate at room temperature for 2 hours (or overnight at 4°C for maximal sensitivity).
7. Aspirate/wash as in step 2. Repeat for a total of 3-5 washes**.
8. Add 100 μ L/well of detection antibody diluted in 1X ELISA/ELISPOT Diluent * (dilute as noted on C of A). Seal the plate and incubate at room temperature for 1 hour.
9. Aspirate/wash as in step 2. Repeat for a total of 3-5 washes**.
10. Add 100 μ L/well of Avidin-HRP* diluted in 1X ELISA/ELISPOT Diluent (dilute as noted on C of A). Seal the plate and incubate at room temperature for 30 minutes.
11. Aspirate and wash as in step 2. In this wash step, soak wells in Wash Buffer* for 1 to 2 minutes prior to aspiration. Repeat for a total of 5-7 washes**.
12. Add 100 μ L/well of 1X TMB Solution to each well. Incubate plate at room temperature for 15 minutes.
13. Add 50 μ L of Stop Solution to each well.
14. Read plate at 450 nm. If wavelength subtraction is available, subtract the values of 570 nm from those of 450 nm and analyze data.

NOTES:

*** Be certain that no sodium azide is present in the solutions used in this assay, as this inhibits HRP enzyme activity.**

****The number of washes in the protocol was adapted to an automatic plate washer. This can be decreased when using other methods but should be tested empirically. Allowing time for soaking (~ 1 minute) during each wash step increases the effectiveness of the washes.**

Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA)

Research Use Only

Quick Guide: Standard Calibration

The following table indicates the protein standard contained in the Ready-SET-Go! is calibrated against NIBSC standards.

Table of Standard Calibration				
Cytokine	ng of eB standard	ng of NIBSC standard	U of NIBSC standard	NIBSC Lot #
hIL-2	1	1.1	14.6	86/564
hIL-4	1	2.2	22	88/656
hIL-5	1	2.2	22	90/586
hIL-6	1	1.7	170	89/548
hIL-8	1	1.8	180	89/520
hIL-10	1	0.8	4	93/722
hIL-12	1	0.8	8	95/544
hIL-17A	1	0.9	9000	01/420
hIFN-g	1	1.1	22	87/586
hTNF-a	1	0.9	36	87/650
mIL-2	1	3.1	310	93/566
mIL-4	1	3	30	91/656
mIL-6	1	8.5	850	93/730
mIFN-g*	1		4.5	Gg02-901-533
mTNF-a	1	1.7	340	88/532

* Mouse IFN-g is calibrated using NIH standard (Lot Gg02-901-533) and is measured in Units (U)

ELISA Troubleshooting Guide

Problem	Possibility	Solution
A. High background	1. Improper and inefficient washing	1. Improve efficiency of washing. Fill plates completely, soak for 1 minute per wash, as directed
	2. Cross contamination from other specimens or positive control	2. Repeat ELISA being careful when washing and pipetting
	3. Contaminated substrate	3. Substrate should be colorless. Replace
	4. Incorrect dilutions, e.g., conjugate concentration was too high	4. Repeat using correct dilutions
B. No signal	1. Improper, low protein binding capacity plates were used	1. Repeat ELISA using recommended high binding capacity plates
	2. Wrong substrate was used	2. Repeat ELISA using the correct substrate
	3. Enzyme inhibitor present in buffers; e.g., sodium azide in the washing buffer and Assay Diluent inhibits	3. Repeat ELISA making no enzyme inhibitor is present in any buffers.

Not for further distribution without written consent.

Copyright © 2000-2014 Affymetrix, eBioscience

Tel: 888.999.1371 or 858.642.2058 • Fax: 858.642.2046 • www.ebioscience.com •

info@ebioscience.com

Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA)

Research Use Only

	peroxidase activity	
	4. Coated capture antibody in ELISA/ELISPOT Diluent rather than Coating Buffer	4. Repeat ELISA using Coating Buffer contained in the set as the diluent for the capture antibody.
C. Very weak signal	1. Improper and inefficient washing	1. Make sure washing procedure is done correctly, with a soak time.
	2. Incorrect dilutions of standard	2. Follow recommendations of standard preparation exactly as written on the C of A
	3. Insufficient incubation time	3. Repeat ELISA following the protocol carefully for each step
	4. Incorrect storage of reagents	4. Store reagents at the correct temperature as indicated on the Technical Data Sheet. Freezing certain components will severely impact results. Do not re-use the standards.
	5. Wrong filter in ELISA reader was used	5. Use the correct wavelength setting
	6. Wrong plate used	6. Use the recommended Corning Costar 9018 or NUNC Maxisorp flat bottom 96 well plates
D. Variation amongst replicates	1. Improper and inefficient washing	1. Make sure washing procedure is done correctly; see C of A. Edge effects can be avoided by moving samples and standards in from the edge of the plate.
	2. Poor mixing of samples	2. Mix samples and reagents gently and equilibrate to proper temperature
	3. Plates not clean	3. Plates should be wiped on bottom before measuring absorbance
	4. Reagents have expired	4. Order a new Ready-Set-Go ELISA.



Human IL-10 ELISA Ready-SET-Go!®
каталожен номер 88-7106

Чувствителност: 2 pg/ml

Стандартен обхват: 2 – 300 pg/ml

Съхранение: Китът се съхранява при 2-8 ° C

Компоненти на кита:

Capture антитяло - претитрирано, пречистено антитяло

Detection антитяло -Предварително титруван, биотин-конюгирано антитяло

Стандарти - Рекомбинантен протеин за генериране на стандартна крива и калибриране проби

10X Coating Buffer. - Буфер за обшивка на Capture антитялото

5X ELISA / ELISPOT разреждател - Буфер за блокиране и разреждане откриващото антитяло и ензимът

Дилуент – 5X концентриран

Ензим - пре-титриран Avidin-HRP

Субстрат - 1X TMB Solution

Сертификат за анализ. ЛОТ-специфични указания за разреждане на антитела и стандарти

96-ямкова плака. Corning Costar 9018 (включена с продукта Cat. # "И приключва през наставки -22, -44, -76, -86).

Работен протокол:

1. Инкубирайте Corning Costar 9018 (или Nunc Maxisorp®) ELISA плоча с 100 мкл / ямка на улавянето на антитела в 1X Coating Buffer (разрежда, както е отбелязано по C на A, която е включена в комплекта на реагент). Запечатайте плоча и се инкубират една нощ при 4 ° C.

2. Аспирирайте кладенци и мият три пъти с > 250 микролитра / Wash Buffer. Предоставяне на достатъчно време за по време на всеки етап на промиване чрез

накисване (~ 1 минута) увеличава ефективността на промиването. Vlot плоча върху абсорбираща хартия, за да отстраните остатъците от буфер.

3 Разреждете една част 5X ELISA / ELISPOT разредител с четири части DI вода. Блокиране на кладенци с 200 микролитра / 1X ELISA / ELISPOT разредител. Инкубира се при стайна температура в продължение на 1 час.

4. Аспирирайте и измийте най-малко един път с Wash Buffer.

5. Използването 1X ELISA / ELISPOT разредител, разреждете стандарти, както е отбелязано на C на A за да се подготви най-концентрацията на стандарта. Добавете 100 микролитра / ямка на горната стандартна концентрация към съответните кладенци. Извършване на 2-кратни серийни разреждания на топ стандарти да стандартната крива за общо 8 точки. Добавете 100 микролитра / ямка на вашите проби към съответните ямки. Запечатайте плоча и се инкубират при стайна температура в продължение на 2 часа (или една нощ при 4 ° C в продължение на максимална чувствителност).

6 Аспирирайте / измиване както в Етап 2 се повтаря за общо 3-5 измивания.

7 Добавете 100 микролитра / за откриване на антитела, разреден в 1X ELISA / ELISPOT разредител (разрежда, както е отбелязано по C на A). Запечатайте плоча и се инкубират при стайна температура за 1 час

8 Аспирирайте / измиване както в стъпка 2 Повторете за общо 3-5 измивания.

9. Добавете 100 микролитра / Avidin-HRP разреждана в 1X ELISA / ELISPOT разредител (разрежда, както е отбелязано по C на A). Запечатайте плоча и се инкубират при стайна температура за 30 минути.

10 Аспирирайте и измийте, както в стъпка 2 В този етап на промиване, накисва кладенци в Wash Buffer за 1 до 2 минути преди аспирация. Повторете за общо 5-7 измивания.

11. Прибавят се 100 uL / ямка от 1 x TMB разтвор към всяка ямка. Плочката се инкубира при стайна температура за 15 минути.

12. Добавете 50 uL стопиращ разтвор към всяка ямка.

13. Премежете абсорбцията при 450 nm. Ако дължината на вълната изваждане е на разположение, се изважда стойността на 570 Nm от тези на 450 Nm и анализ на данни.

Human CD83 antigen (CD83) ELISA kit

Catalog Number. MBS924667

For the quantitative determination of human CD83 antigen (CD83) concentrations in serum, plasma, tissue homogenates.

This package insert must be read in its entirety before using this product.

MYBiosource.com

PRINCIPLE OF THE ASSAY

This assay employs the quantitative sandwich enzyme immunoassay technique. Antibody specific for CD83 has been pre-coated onto a microplate. Standards and samples are pipetted into the wells and any CD83 present is bound by the immobilized antibody. After removing any unbound substances, a biotin-conjugated antibody specific for CD83 is added to the wells. After washing, avidin conjugated Horseradish Peroxidase (HRP) is added to the wells. Following a wash to remove any unbound avidin-enzyme reagent, a substrate solution is added to the wells and color develops in proportion to the amount of CD83 bound in the initial step. The color development is stopped and the intensity of the color is measured.

DETECTION RANGE

7.8 pg/ml-500 pg/ml.

SENSITIVITY

The minimum detectable dose of human CD83 is typically less than 1.95 pg/ml. The sensitivity of this assay, or Lower Limit of Detection (LLD) was defined as the lowest protein concentration that could be differentiated from zero. It was determined the mean O.D value of 20 replicates of the zero standard added by their three standard deviations.

SPECIFICITY

This assay has high sensitivity and excellent specificity for detection of human CD83. No significant cross-reactivity or interference between human CD83 and analogues was observed.

Note: Limited by current skills and knowledge, it is impossible for us to complete the cross-reactivity detection between human CD83 and all the analogues, therefore, cross reaction may still exist.

PRECISION

Intra-assay Precision (Precision within an assay): CV%<8%

Three samples of known concentration were tested twenty times on one plate to assess.

Inter-assay Precision (Precision between assays): CV%<10%

Three samples of known concentration were tested in twenty assays to assess.

LIMITATIONS OF THE PROCEDURE

- **FOR RESEARCH USE ONLY. NOT FOR USE IN DIAGNOSTIC PROCEDURES.**
- The kit should not be used beyond the expiration date on the kit label.
- Do not mix or substitute reagents with those from other lots or sources.
- If samples generate values higher than the highest standard, dilute the samples with Sample Diluent and repeat the assay.
- Any variation in Sample Diluent, operator, pipetting technique, washing technique, incubation time or temperature, and kit age can cause variation in binding.
- This assay is designed to eliminate interference by soluble receptors, binding proteins, and other factors present in biological samples. Until all factors have been tested in the Immunoassay, the possibility of interference cannot be excluded.

MATERIALS PROVIDED

Reagents	Quantity
Assay plate (12 x 8 coated Microwells)	1(96 wells)
Standard (Freeze dried)	2
Biotin-antibody (100 x concentrate)	1 x 120 µl
HRP-avidin (100 x concentrate)	1 x 120 µl
Biotin-antibody Diluent	1 x 10 ml
HRP-avidin Diluent	1 x 10 ml
Sample Diluent	1 x 20 ml
Wash Buffer (25 x concentrate)	1 x 20 ml
TMB Substrate	1 x 10 ml
Stop Solution	1 x 10 ml
Adhesive Strip (For 96 wells)	4
Instruction manual	1

STORAGE

Unopened kit	Store at 2 - 8°C. Do not use past kit expiration date	
Opened kit	Coated assay plate	May be stored for up to 1 month at 2 - 8°C. Try to keep it in a sealed aluminum foil bag, and avoid the damp.
	Standard	May be stored for up to 1 month at 2 - 8°C. If don't make recent use, better keep it store at -20°C.
	Biotin-antibody	
	HRP-avidin	
	Biotin-antibody Diluent	May be stored for up to 1 month at 2 - 8°C.
	HRP-avidin Diluent	
	Sample Diluent	
	Wash Buffer	
	TMB Substrate	
Stop Solution		

*Provided this is within the expiration date of the kit.

OTHER SUPPLIES REQUIRED

- Microplate reader capable of measuring absorbance at 450 nm, with the correction wavelength set at 540 nm or 570 nm.
- An incubator which can provide stable incubation conditions up to 37°C±0.5°C.
- Squirt bottle, manifold dispenser, or automated microplate washer.
- Absorbent paper for blotting the microtiter plate.
- 100 mL and 500 mL graduated cylinders.
- Deionized or distilled water.
- Pipettes and pipette tips.
- Test tubes for dilution.

PRECAUTIONS

The Stop Solution provided with this kit is an acid solution. Wear eye, hand, face, and clothing protection when using this material.

MYBioSource.com

SAMPLE COLLECTION AND STORAGE

- **Serum** Use a serum separator tube (SST) and allow samples to clot for two hours at room temperature or overnight at 4°C before centrifugation for 15 minutes at 1000 ×g. Remove serum and assay immediately or aliquot and store samples at -20°C or -80°C. Avoid repeated freeze-thaw cycles.
- **Plasma** Collect plasma using EDTA, or heparin as an anticoagulant. Centrifuge for 15 minutes at 1000 ×g at 2-8°C within 30 minutes of collection. Assay immediately or aliquot and store samples at -20°C or -80°C. Avoid repeated freeze-thaw cycles.
- **Tissue Homogenates** 100mg tissue was rinsed with 1X PBS, homogenized in 1 ml of 1X PBS and stored overnight at -20°C. After two freeze-thaw cycles were performed to break the cell membranes, the homogenates were centrifuged for 5 minutes at 5000 x g, 2 - 8°C. The supernate was assayed and removed immediately. Alternatively, aliquot and store samples at -20°C or -80°C. Centrifuge the sample again after thawing before the assay. Avoid repeated freeze-thaw cycles

SAMPLE PREPARTION

Serum and plasma samples require a 10-fold dilution into Sample Diluent. The suggested 10-fold dilution can be achieved by adding 25 μ l sample to 225 μ l of Sample Diluent. The recommended dilution factor is for reference only. The optimal dilution factor should be determined by users according to their particular experiments.

Note:

1. We are only responsible for the kit itself, but not for the samples consumed during the assay. The user should calculate the possible amount of the samples used in the whole test. Please reserve sufficient samples in advance.
2. Samples to be used within 5 days may be stored at 2-8 $^{\circ}$ C, otherwise samples must be stored at -20 $^{\circ}$ C (\leq 1month) or -80 $^{\circ}$ C (\leq 2month) to avoid loss of bioactivity and contamination.
3. Grossly hemolyzed samples are not suitable for use in this assay.
4. If the samples are not indicated in the manual, a preliminary experiment to determine the validity of the kit is necessary.
5. Please predict the concentration before assaying. If values for these are not within the range of the standard curve, users must determine the optimal sample dilutions for their particular experiments.
6. Tissue or cell extraction samples prepared by chemical lysis buffer may cause unexpected ELISA results due to the impacts of certain chemicals.
7. Owing to the possibility of mismatching between antigen from other resource and antibody used in our kits (e.g., antibody targets conformational epitope rather than linear epitope), some native or recombinant proteins from other manufacturers may not be recognized by our products.
8. Influenced by the factors including cell viability, cell number and also sampling time, samples from cell culture supernatant may not be detected by the kit.
9. Fresh samples without long time storage are recommended for the test. Otherwise, protein degradation and denaturalization may occur in those samples and finally lead to wrong results.

REAGENT PREPARATION

Note:

- **Kindly use graduated containers to prepare the reagent. Please don't prepare the reagent directly in the Diluent vials provided in the kit.**
- Bring all reagents to room temperature (18-25°C) before use for 30min.
- Prepare fresh standard for each assay. Use within 4 hours and discard after use.
- Making serial dilution in the wells directly is not permitted.
- Please carefully reconstitute Standards according to the instruction, and avoid foaming and mix gently until the crystals have completely dissolved. To minimize imprecision caused by pipetting, use small volumes and ensure that pipettors are calibrated. It is recommended to suck more than 10µl for once pipetting.
- Distilled water is recommended to be used to make the preparation for reagents or samples. Contaminated water or container for reagent preparation will influence the detection result.

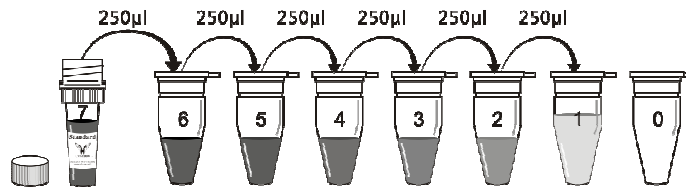
1. **Biotin-antibody (1x)** - Centrifuge the vial before opening.
Biotin-antibody requires a 100-fold dilution. A suggested 100-fold dilution is 10 µl of **Biotin-antibody** + 990 µl of **Biotin-antibody Diluent**.
2. **HRP-avidin (1x)** - Centrifuge the vial before opening.
HRP-avidin requires a 100-fold dilution. A suggested 100-fold dilution is 10 µl of **HRP-avidin** + 990 µl of **HRP-avidin Diluent**.
3. **Wash Buffer(1x)**- If crystals have formed in the concentrate, warm up to room temperature and mix gently until the crystals have completely dissolved. Dilute 20 ml of Wash Buffer Concentrate (25 x) into deionized or distilled water to prepare 500 ml of Wash Buffer (1 x).

4. **Standard**

Centrifuge the standard vial at 6000-10000rpm for 30s.

Reconstitute the **Standard** with 1.0 ml of **Sample Diluent**. Do not substitute other diluents. This reconstitution produces a stock solution of 500 pg/ml. Mix the standard to ensure complete reconstitution and allow the standard to sit for a minimum of 15 minutes with gentle agitation prior to making dilutions.

Pipette 250 μ l of **Sample Diluent** into each tube (S0-S6). Use the stock solution to produce a 2-fold dilution series (below). Mix each tube thoroughly before the next transfer. The undiluted Standard serves as the high standard (500 pg/ml). **Sample Diluent** serves as the zero standard (0 pg/ml).



Tube	S7	S6	S5	S4	S3	S2	S1	S0
pg/ml	500	250	125	62.5	31.2	15.6	7.8	0

ASSAY PROCEDURE

Bring all reagents and samples to room temperature before use. Centrifuge the sample again after thawing before the assay. It is recommended that all samples and standards be assayed in duplicate.

1. Prepare all reagents, working standards, and samples as directed in the previous sections.
2. Refer to the Assay Layout Sheet to determine the number of wells to be used and put any remaining wells and the desiccant back into the pouch and seal the ziploc, store unused wells at 4°C.
3. Add 100µl of standard and sample per well. Cover with the adhesive strip provided. Incubate for 2 hours at 37°C. A plate lay out is provided to record standards and samples assayed.
4. Remove the liquid of each well, **don't wash**.
5. Add 100µl of **Biotin-antibody (1x)** to each well. Cover with a new adhesive strip. Incubate for 1 hour at 37°C. (**Biotin-antibody (1x)** may appear cloudy. Warm up to room temperature and mix gently until solution appears uniform.)
6. Aspirate each well and wash, repeating the process two times for a total of three washes. Wash by filling each well with Wash Buffer (200µl) using a squirt bottle, multi-channel pipette, manifold dispenser, or autowasher, and let it stand for 2 minutes, complete removal of liquid at each step is essential to good performance. After the last wash, remove any remaining wash Buffer by aspirating or decanting. Invert the plate and blot it against clean paper towels.
7. Add 100µl of **HRP-avidin (1x)** to each well. Cover the microtiter plate with a new adhesive strip. Incubate for 1 hour at 37°C.
8. Repeat the aspiration/wash process for five times as in step 6.
9. Add 90µl of **TMB Substrate** to each well. Incubate for 15-30 minutes at 37°C. **Protect from light**.
10. Add 50µl of **Stop Solution** to each well, gently tap the plate to ensure thorough mixing.

11. Determine the optical density of each well within 5 minutes, using a microplate reader set to 450 nm. If wavelength correction is available, set to 540 nm or 570 nm. Subtract readings at 540 nm or 570 nm from the readings at 450 nm. This subtraction will correct for optical imperfections in the plate. Readings made directly at 450 nm without correction may be higher and less accurate.

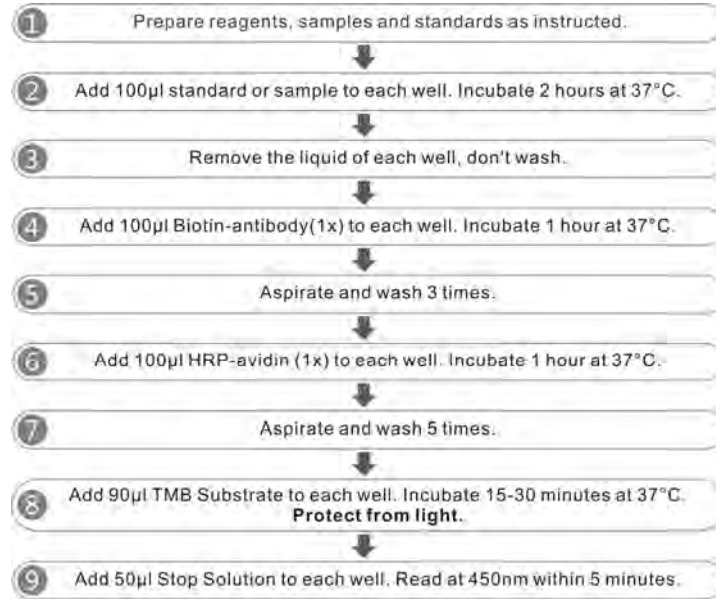
***Samples may require dilution. Please refer to Sample Preparation section.**

Note:

1. The final experimental results will be closely related to validity of the products, operation skills of the end users and the experimental environments.
2. Samples or reagents addition: Please use the freshly prepared Standard. Please carefully add samples to wells and mix gently to avoid foaming. Do not touch the well wall as possible. For each step in the procedure, total dispensing time for addition of reagents or samples to the assay plate should not exceed 10 minutes. This will ensure equal elapsed time for each pipetting step, without interruption. Duplication of all standards and specimens, although not required, is recommended. To avoid cross-contamination, change pipette tips between additions of each standard level, between sample additions, and between reagent additions. Also, use separate reservoirs for each reagent.
3. Incubation: To ensure accurate results, proper adhesion of plate sealers during incubation steps is necessary. Do not allow wells to sit uncovered for extended periods between incubation steps. Once reagents have been added to the well strips, DO NOT let the strips DRY at any time during the assay. Incubation time and temperature must be observed.
4. Washing: The wash procedure is critical. Complete removal of liquid at each step is essential to good performance. After the last wash, remove any remaining Wash Solution by aspirating or decanting and remove any drop of water and fingerprint on the bottom of the plate. Insufficient washing will result in poor precision and falsely elevated absorbance reading. When using an automated plate washer, adding a 30 second soak period following the addition of wash buffer, and/or rotating the plate 180 degrees between wash steps may improve assay precision.

5. Controlling of reaction time: Observe the change of color after adding TMB Substrate (e.g. observation once every 10 minutes), TMB Substrate should change from colorless or light blue to gradations of blue. If the color is too deep, add Stop Solution in advance to avoid excessively strong reaction which will result in inaccurate absorbance reading.
6. TMB Substrate is easily contaminated. TMB Substrate should remain colorless or light blue until added to the plate. Please protect it from light.
7. Stop Solution should be added to the plate in the same order as the TMB Substrate. The color developed in the wells will turn from blue to yellow upon addition of the Stop Solution. Wells that are green in color indicate that the Stop Solution has not mixed thoroughly with the TMB Substrate.

ASSAY PROCEDURE SUMMARY



*Samples may require dilution. Please refer to Sample Preparation section.

CALCULATION OF RESULTS

Using the professional soft "Curve Expert 1.3" to make a standard curve is recommended, which can be downloaded from our web.

Average the duplicate readings for each standard and sample and subtract the average zero standard optical density.

Create a standard curve by reducing the data using computer software capable of generating a four parameter logistic (4-PL) curve-fit. As an alternative, construct a standard curve by plotting the mean absorbance for each standard on the x-axis against the concentration on the y-axis and draw a best fit curve through the points on the graph. The data may be linearized by plotting the log of the CD83 concentrations versus the log of the O.D. and the best fit line can be determined by regression analysis. This procedure will produce an adequate but less precise fit of the data.

If samples have been diluted, the concentration read from the standard curve must be multiplied by the dilution factor.

Human CD83 antigen (CD83) ELISA kit
каталожен номер **MBS924667**

Съхранение: Китът се съхранява при 2-8 ° C

Чувствителност: 1.95 pg/ml.

Детекционен обхват: 7.8 pg/ml-500 pg/ml.

Компаненти на кита:

Плаки (12 x 8 coated Microwells) 1(96 wells)

Стандарти (Freeze dried) 2

Biotin-antibody (100 x concentrate) 1 x 120 µl

HRP-avidin (100 x concentrate) 1 x 120 µl

Biotin-antibody Diluent 1 x 10 ml

HRP-avidin Diluent 1 x 10 ml

Разредител на проби 1 x 20 ml

Миеш буфер (25 x concentrate) 1 x 20 ml

ТМВ себстрат 1 x 10 ml

Стопиращ разтвор 1 x 10 ml

Адхезивни стрипове (For 96 wells) 4

Инструкции за употреба - 1

Подготовка на пробите:

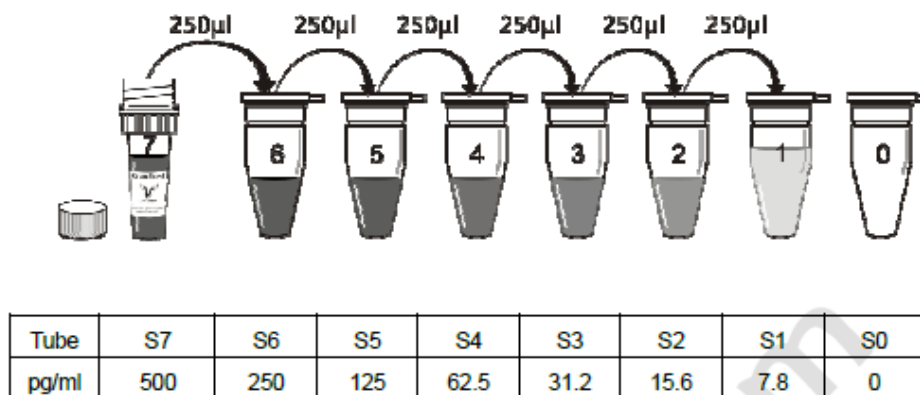
Серумните и плазмени проби изискват 10-кратно разреждане в разредител за проби. Предложеният 10-кратно разреждане може да се постигне чрез добавяне на 25 µl проба 225µl проба разредител. Препоръчва се фактор на разреждане е само за справка. Факторът за оптимално разреждане трябва да се определя от потребителите в съответствие с техните конкретни експерименти.

Подготовка на стандартите:

Центрофугирайте стандартнат флакона - 6000-10000 rpm.

Разтворете стандартно с 1,0 мл разредител за проби. Не заменяйте други разредители. Това разтваряне произвежда изходен разтвор от 500 пг / мл. Смесете стандарт да се осигури пълно разтваряне и може стандартът да седи в продължение на минимум 15 минути с леко разклащане преди вземане разреждания. Прехвърля се с пипета 250 мкл Sample разредител във всяка епруветка (S0-S6). Използвайте разтвора на склад за производство на серия

разреждане на два пъти (по-долу). Всяка епруветка се размесва добре преди следващото прехвърляне. The неразреден стандарт служи за висок стандарт (500 пг / мл). Проба разреждател служи като нулев стандарт (0 пг / мл).



Работен протокол:

- 1 Подготовка на всички реактиви, работни стандарти, и проби, както е указано в предишните раздели.
2. Вижте Състав Layout лист за да се определи броя на кладенци да бъдат използвани и сложи всички останали кладенци и десикант обратно в торбичката и запечатай найлонови, магазин неизползваните кладенците при 4 ° C.
3. Добавете 100 μ l на стандарт и проба на ямка. Покрийте с лента адхезив. Инкубирайте в продължение на 2 часа при 37 ° C. Една чиния изложи се предоставят за записване на стандартите и пробите се анализират.
- 4 Отстранете течността от всяка ямка, не си мият.
5. Добавете 100 μ l биотин-антитяло (1x) към всяка ямка. Покрийте с нова самозалепваща лента. Инкубирайте за 1 час при 37 ° C. (Биотин-антитела (1x) може да изглежда мътна. Се затопли до стайна температура и се разбърква внимателно, докато се появи решение униформа.)
- 6 Аспирирайте и промийте всяка ямка, като процесът се повтаря два пъти за общо три измивания. Измийте чрез попълване на всяко гнездо с Wash Buffer (200 μ l) с помощта на бутилка келеш, мулти-канален пипета колектор опаковка, или autowasher, и го оставете да престои в продължение на 2 минути, пълно отстраняване на течност при всяка стъпка е от съществено значение за доброто представяне. След последното измиване, извадете всички останали буфер за

промиване чрез аспириране ordecanting. Обърнете плочата и да го залича срещу чисти хартиени кърпи.

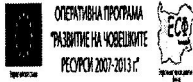
7. Добавете 100 μ l на HRP-авидин (1x) към всяка ямка. Покрийте ямките с нова самозалепваща лента. Инкубирайте за 1 час при 37 ° C.

8 се повтаря процеса на пълнене / измиване за пет пъти в стъпка 6.

9 Добави 90 μ l на TMB субстрат към всяка ямка. Инкубирайте в продължение на 15-30 минути при 37 ° C. Да се пази от светлина.

10 Добавяне на 50 μ l на Stop Solution във всяко гнездо, леко потупайте плаката да се осигури пълно смесване.

11 Определете оптичната плътност на всяка ямка в рамките на 5 минути, с помощта на четец за микроплаки настроен на 450 Nm. Ако корекция на дължината на вълната е на разположение, настроен на 540 Nm или 570 Nm. Изваждане четения на 540 Nm или 570 Nm от показанията при 450 nm. Това изваждане ще коригира за оптични дефекти в плаката. Четения направени директно при 450 nm без корекция може да бъдат по-високи и по-малко точни.



ЕВРОПЕЙСКИ СОЦИАЛЕН ФОНД 2007 – 2013
МИНИСТЕРСТВО НА ОБРАЗОВАНИЕТО И НАУКАТА
ОПЕРАТИВНА ПРОГРАМА „РАЗВИТИЕ НА ЧОВЕШКИТЕ РЕСУРСИ“



BG051PO001-3.3.06 -0059

ФУНДАМЕНТАЛНО И ПРИЛОЖНО ОБУЧЕНИЕ
НА ДОКТОРАНТИ, ПОСТДОКТОРАНТИ,
СПЕЦИАЛИЗАНТИ И МЛАДИ УЧЕНИ
В ИНТЕРДИСЦИПЛИНАРНИ БИОЛОГИЧНИ НАПРАВЛЕНИЯ
И ИНОВАЦИОННИ БИОТЕХНОЛОГИИ.

Бенефициент:

Институт по биология и имунология на размножаването "Акад. Кирил Братанов"

Образец № 4

ДО ИБИР – БАН
бул. „Цариградско шосе“ № 73
гр. София

ЦЕНОВА ОФЕРТА

За участие в открита процедура за възлагане на обществена поръчка с предмет:
«Доставка на материали /реактиви/ и консумативи по обособени позиции»

ЗА ОБОСОБЕНА ПОЗИЦИЯ № и име

Обособена позиция № 22 - Колориметрични ELISA китове за определяне на цитокини

Настоящата оферта е подадена от: Ай Ви Ди България ООД/наименование на участника/, ЕИК/БУЛСТАТ200123131.; адрес по регистрация: гр. София, ул. Бигла 21А, Адрес за кореспонденция: гр. София 1756, ж.к. Дървеница, бл. 48 В, факс 02/975 80 23,

Заличени данни - чл.37,
ал.1 от ЗЗК - търговска
тайна

Заличени данни - чл.37,
ал.1 от ЗЗК - търговска
тайна

УВАЖАЕМА ГОСПОЖО ДИРЕКТОР,

1. С настоящето представяме нашата ценова оферта за обособена позиция **Обособена позиция № 22 - Колориметрични ELISA китове за определяне на цитокини** (офертата се изготвя за всяка обособена позиция по отделно) от поръчката.

Приемаме да изпълним поръчката по посочената обособена позиция, при следните цени:

Заличен печат - чл.37, ал1 от ЗЗК -
търговска тайна;
Заличен подпис - чл.2, ал.1 от ЗЗЛД

Проектът се осъществява с финансовата подкрепа на Оперативна програма „Развитие на човешките ресурси“ 2007-2013, съфинансирана от Европейския съюз чрез “Европейския социален фонд“

1	2	3	4	5	6	7	8	
№ по ред	Номер от ОП	Наименование	Единица мярка	Количество	Предложение на участника	Единична цена в лева без ДДС, съобразно единицата мярка	Обща цена в лева без ДДС (колона 5 x колона 7)	Каталожен номер/брой в опаковка/производител
	ОП Р-... / ОП К-...	Обособена позиция № 22 - Колориметрични ELISA китове за определяне на цитокини						
215	ОП Р-22-1	ELISA кит за определяне на човешки IL-2; опаковка от 10 плаки по 96 теста	кит	1	Съгласно приложената Техническа оферта за съответната обособена позиция.	990	990	88-7025-86 , ebioscience, 10 плаки по 96 теста
216	ОП Р-22-2	ELISPOT кит за определяне на човешки IFN-gamma; опаковка от 2 плаки по 96 теста	кит	1	Съгласно приложената Техническа оферта за съответната обособена позиция.	510,00	510,00	88-7386-21, ebioscience, 2 плаки по 96 теста
217	ОП Р-22-3	ELISA кит за определяне на човешки/миши TGF beta 1; опаковка от 2 плаки по 96 теста	кит	1	Съгласно приложената Техническа оферта за съответната обособена позиция.	400,00	400,00	88-8350-22, ebioscience, 2 плаки по 96 теста
218	ОП Р-22-4	ELISA кит за определяне на човешки IL-10; опаковка от 10 плаки по 96 теста	кит	1	Съгласно приложената Техническа оферта за съответната обособена позиция.	990,00	990,00	88-7106-86 , ebioscience, 10 плаки по 96 теста
219	ОП Р-22-5	ELISA кит за определяне на човешки CD83; опаковка от 96 теста	кит	1	Съгласно приложената Техническа оферта за съответната обособена позиция.	1600,00	1600,00	MBS924667 , MyBiosource, 96 tests

Обща цена на обособената позиция, лева без ДДС	4490,00
За участници регистрирани по ЗДДС: ДДС = 20%, лева	898,00
Обща цена на офертата с ДДС, лева	5388,00

Заличен печат - чл.37, ал1 от ЗЗК - търговска тайна;
Заличен подпис - чл.2, ал.1 от ЗЗЛД

Проектът се осъществява с финансовата подкрепа на Оперативна програма „Развитие на човешките ресурси” 2007-2013, съфинансирана от Европейския съюз чрез “Европейския социален фонд”

Пояснения:

- Колони 1 – 5 от таблицата се попълват съгласно Техническата Спецификация на Възложителя - Приложение № 1 от документацията за участие – без да се променят !!.
- Колона № 6 „Предложение на участника» може да не се попълва с конкретни технически характеристики, каталожен или партиден номер на артикула и други, а да се напише текст „Съгласно приложената Техническа оферта за съответната обособена позиция”.
- ДДС, в случай, че е дължим от Възложителя, ще се заплаща съгласно разпоредбите на българското законодателство.
- Оценката на офертите се извършва по цени в лева без ДДС. !

2. Цените включват стойност на стоките и всички присъщи разходи, данъци и такси за доставка (без ДДС) франко ИБИР-БАН, гр. София, бул. «Цариградско шосе» № 73. Данък добавена стойност (ДДС) се заплаща отделно, съгласно изискванията на българското законодателство.

3. Цените се представят с точност до втория знак след десетичната запетая и не подлежат на промяна за срока на договора, сключен с Възложителя.

4. Условия и начин на плащане: по банков път, в лева по наша банкова сметка както следва:

Заличени данни - чл.37, ал1 от ЗЗК - търговска тайна

при банка
в срок от 5 календарни дни след доставка и представяне на фактура, двустранно подписан приемателно-предавателен протокол и заверено копие на писмена заявка от възложителя.

5. При условие, че бъдем избрани за изпълнител на обществената поръчка, ще представим парична / банкова гаранция за изпълнение на задълженията по договора в размер на 2% от стойността му, без ДДС.

6. Подаването на настоящата ценова оферта удостоверява безусловното приемане от наша страна на всички изисквания и задължения, поставени от Възложителя в провежданата процедура.

! ВАЖНО: Ако участникът подава оферта за повече от една обособена позиция, плик № 3 т.е. Ценова оферта се представя за всяка обособена позиция по отделно в отделен плик № 3 и се подписва по следния начин:

„Име на участника:
Предлагана цена по обособена позиция №”

Заличен печат - чл.37, ал1 от ЗЗК - търговска тайна;
Заличен подпис - чл.2, ал.1 от ЗЗЛД

Дата 08.08.2014
гр. София

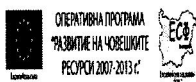
/ подпис, печат

Заличени лични данни - чл.2, ал.1 от ЗЗЛД

Управител
Ай Ви Ди България ООД

BG051PO001-3.3.06 -0059

«Доставка на материали /реактиви/ и консумативи по обособени позиции»



ЕВРОПЕЙСКИ СОЦИАЛЕН ФОНД 2007 – 2013
МИНИСТЕРСТВО НА ОБРАЗОВАНИЕТО И НАУКАТА
ОПЕРАТИВНА ПРОГРАМА „РАЗВИТИЕ НА ЧОВЕШКИТЕ РЕСУРСИ”



BG051PO001-3.3.06 -0059

ФУНДАМЕНТАЛНО И ПРИЛОЖНО ОБУЧЕНИЕ
НА ДОКТОРАНТИ, ПОСТДОКТОРАНТИ,
СПЕЦИАЛИЗАНТИ И МЛАДИ УЧЕНИ
В ИНТЕРДИСЦИПЛИНАРНИ БИОЛОГИЧНИ НАПРАВЛЕНИЯ
И ИНОВАЦИОННИ BIOTEKHOЛОГИИ.

Проектът се осъществява с финансовата подкрепа на Оперативна програма „Развитие на човешките ресурси” 2007-2013, съфинансирана от Европейския съюз чрез “Европейския социален фонд”

Образец № 8

ДЕКЛАРАЦИЯ

по чл. 56, ал. 1, т. 8 от ЗОП

за използване / не използване на подизпълнители

Долуподписаният Заличени лични данни - чл.2, ал.1 от ЗЗЛД

в качеството си на Управител (длъжност) на .Ай Ви Ди България ООД

(наименование на участника или на дружество – член на обединение / консорциум - участник в процедурата), ЕИК 200123131, със седалище и адрес на управление гр. София, ул. Бигла 21А - участник в процедура за възлагане на обществена поръчка с предмет: «Доставка на материали /реактиви/ и консумативи по обособени позиции», обявена от ИБИР-БАН в изпълнение на Договор № BG051PO001-3.3.06 -0059

ДЕКЛАРИРАМ, ЧЕ:

Представленият от мен участник в процедурата – Ай Ви Ди България ООД(наименование на участника):

1. при изпълнението на обществената поръчка няма да използва подизпълнители

Известно ми е, че за посочване на неверни данни, нося наказателна отговорност по чл. 313 от Наказателния кодекс.

Забележка: т. 2, 3 и 4 се попълват за всяка обособена позиция поотделно.

05.08.2014

(дата на подписване)

Декларатор:

Заличен печат - чл.37, ал1 от ЗЗК -
търговска тайна;
Заличен подпис - чл.2, ал.1 от ЗЗЛД

Заличени лични данни - чл.2, ал.1 от ЗЗЛД

Платете на - име на получателя ИБИР БАН			
IBAN на получателя BG26UNCR96603110023912		BIC на банката на получателя UNCRBGSF	
При банка - име на банката на получателя УНИКРЕДИТ БУЛБАНК АД		Вид плащане***	
ПЛАТЕЖНО НАРЕЖДАНЕ / ВНОСНА БЕЛЕЖКА		Валута	Сума
за плащане от/към бюджета		BGN	89.80
Основание за плащане гаранция изп. ОП ИБИР-БАН 2014			
Още пояснения доставка на консумативи лот 22			
Вид* и номер на документа, по който се плаща 9		Дата (ддммгггг) на документа	
Период, за който се плаща	От дата (ддммгггг)	До дата (ддммгггг)	
Задължено лице - наименование на юридическото лице или трите имена на физическото лице IVD BULGARIA OOD			
БУЛСТАТ на задълженото лице 200123131	ЕГН на задълженото лице	ЛНЧ на задълженото лице	
Наредител - наименование на юридическото лице или трите имена на физическото лице IVD BULGARIA OOD			
IBAN на наредителя		BIC на банката на наредителя	
Заличени данни - чл.37, ал. 1 от ЗЗК - търговска тайна			
Договорен курс / negotiated rate			
Платежна система / РИНГС или БИСЕРА**** БИСЕРА	Такси** 2	Вид плащане***	

*Вид документ: 1 – декларация; 2 - ревизионен акт; 3 – наказ. постановление; 4 – авансова вноска; 5 – парт. номер на имот; 6 – постановление за принудително събиране; 9 - други

**Такси: 1 - за сметка на наредителя; 2 - споделени (стандарт за местни преводи); 3 - за сметка на получателя

***Вид плащане: попълва се за сметки на администратори на приходи и на Централния бюджет

****За суми под 100.000 лв., ако полето "платежна система" не е попълнено, банката изпълнява нареждането чрез БИСЕРА

Статистическа форма/Statistics form

Създаване

Създател

Дата на създаване

Дата на изпълнение

Валидно преди

Заличени лични данни - чл.2, ал.1 от ЗЗЛД

17.11.2014 15:44

17.11.2014

17.12.2014

Подписи:

Дата на подписване

Име на потребител

17.11.2014 15:45

Заличени лични данни - чл.2, ал.1 от ЗЗЛД

Изпратен: 17.11.2014 15:45

Заличен печат - чл.37, ал. 1 от ЗЗК - търговска тайна;
Заличен подпис - чл.2, ал.1 от ЗЗЛД