

**Cytokine 4-Plex A (C4PA)**用于检测血清和血浆中4种细胞因子。这四个生物标志物分别是白细胞介素-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ )、白细胞介素6 (IL-6)、白细胞介素10 (IL-10)、人类肿瘤坏死因子- $\alpha$  (TNF $\alpha$ )。IL-1 $\beta$ 又称分解代谢素,是由活化的巨噬细胞产生的一种前蛋白, IL-1 $\beta$ 是IL-1家族细胞因子中研究最多的成员, 因为其在介导自身炎症性疾病中的作用。来自自身炎症综合征患者的血液单核细胞比来自健康受试者的细胞释放更多的加工过的IL-1 $\beta$ , 因此可能解释了这些疾病中的炎症。IL-1 $\beta$ 的中和导致疾病严重程度的迅速和持续降低。虽然一些自身炎症性疾病是由于 caspase-1活性的功能获得性突变, 但常见疾病如痛风、2型糖尿病、心力衰竭、复发性心包炎、类风湿性关节炎和阴燃性骨髓瘤也对IL-1 $\beta$  中和有反应。IL-6是具有多种生物学功能的 $\alpha$ -螺旋细胞因子, 包括诱导急性期反应, 炎症, 造血, 骨代谢和癌症进展。由于其在诱导炎症和自身免疫反应方面的作用, 人们有兴趣开发抗 IL-6药物作为治疗各种疾病(包括类风湿性关节炎和癌症)的潜在疗法。IL-10的主要作用是作为一种抗炎细胞因子。它主要由单核细胞, 2型T辅助细胞和B细胞产生。IL-10也由细胞毒性T细胞释放, 以抑制自然杀伤细胞在对病毒感染的免疫应答过程中的作用, 包括下调巨噬细胞上的 Th1细胞因子表达, MHC II类抗原和刺激分子。IL-10也可以抑制由巨噬细胞和调节性T细胞产生的促炎细胞因子如 IFN- $\gamma$ , IL-2, TNF $\alpha$ 和GM-CSF的合成, 其在体力活动期间的升高表明运动促进抗炎细胞因子的环境。 IL-10作为一种潜在的抗炎治疗方法已经引起人们的兴趣, 但是类风湿性关节炎的初步研究显示的有限功效。TNF $\alpha$ 是一种同源三聚体跨膜蛋白, 具有促炎性细胞因子的功能。人类肿瘤坏死因子是一种非糖基化蛋白, 含有157个氨基酸(17kDa)。它主要由巨噬细胞产生, 但也由各种其他细胞类型产生, 包括单核细胞, 嗜中性粒细胞和T细胞。功能上已知触发各种炎症分子, 包括其他细胞因子和趋化因子。TNF $\alpha$ 可溶性形式通过1型(TNFR1)和2型(TNFR2)受体促进各种生物活性。 TNFR1在所有组织中均有表达, 是TNF $\alpha$ 的关键信号受体。肿瘤坏死因子参与多种信号转导途径, 将蛋白质与急性炎症、细胞凋亡、感染性休克、细胞生长和分化等多种功能联系起来。肿瘤坏死因子与多种疾病有关, 包括类风湿性关节炎、癌症、恶病质和克罗恩病。

## Simoa Cytokine 4-Plex A Advantage PLUS Reagent Kit 104979

试剂盒描述	
可检测因子	IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-10, TNF $\alpha$
实验方法	2 step digital immunoassay
算法	4-parameter logistic curve fit, 1/ $y^2$ weighted
总反应数/套	96
兼容物种	人类
兼容样本类型	EDTA血浆 (E)、血清 (S) *

\* 样本类型注释: E=EDTA血浆, S=血清

试剂盒包含内容			
名称	数量	保存温度	备注
Bead	1瓶	2-8 $^{\circ}$ C	包被捕获抗体的磁珠
Detector	1瓶	2-8 $^{\circ}$ C	生物素化的检测抗体
SBG	1瓶	2-8 $^{\circ}$ C	链霉亲和素- $\beta$ -半乳糖苷酶
RGP	3瓶	2-8 $^{\circ}$ C	反应底物
Activation Buffer	1瓶	2-8 $^{\circ}$ C	反应底物的激活缓冲液
Lyophilized Calibrator Concentrate	1瓶	2-8 $^{\circ}$ C	冻干标准品
Lyophilized Control 1 Concentrate	1瓶	2-8 $^{\circ}$ C	冻干质控内参1
Lyophilized Control 2 Concentrate	1瓶	2-8 $^{\circ}$ C	冻干质控内参2
Calibrator Diluent	1瓶	2-8 $^{\circ}$ C	标准品稀释液
Control Diluent	1瓶	2-8 $^{\circ}$ C	质控内参稀释液
Sample Diluent	1瓶	2-8 $^{\circ}$ C	样本稀释液

关键检测参数 (pg/mL)		
LL0Q (定量下限)	IL-1 $\beta$	0.01
	IL-6	0.028
	IL-10	0.143
	TNF $\alpha$	0.481
LOD (检测限)	IL-1 $\beta$	0.002
	IL-6	0.008
	IL-10	0.033
	TNF $\alpha$	0.061
动态检测范围 (原样浓度)	EDTA血浆/血清	IL-1 $\beta$ 0 - 48
		IL-6 0 - 160
		IL-10 0 - 300
		TNF $\alpha$ 0 - 400

其他相关资料
<a href="#">Cytokine 4-Plex A (C4PA) Advantage Plus Data Sheet</a>
<a href="#">Cytokine 4-Plex A (C4PA) Advantage Plus Validation Report</a>

## 其他参考信息

一般性检测计划		
名称	单重复检测*	双重复检测*
标曲数	8梯度 $\times$ 2重复	
内参数	2内参 $\times$ 2重复	
样本数	76例	38例
所需体积	E、S=200 $\mu$ L*	E、S=300 $\mu$ L*
合计反应数	96	96

\*检测重复数注释: 单重复=每样本进行1个反应检测, 双重复=每样本进行2个反应检测

\*样本类型注释: E=EDTA血浆, S=血清

## Simoa检测流程简述

**Step 1:** 取25 $\mu$ L Beads (磁珠)、100 $\mu$ L的标准品或使用Sample Diluent稀释后的100 $\mu$ L样本及20 $\mu$ L Detector (检测抗体) 共同加入到反应槽 (Cuvette, Quanterix) 中进行混合并在30 $^{\circ}$ C下孵育反应47 cadences (45 seconds/cadence), 约35:15min; 期间抗体结合样本中的标志蛋白并形成双抗夹心免疫复合物, 反应结束后使用system wash buffer1进行清洗去除未结合的物质;  
**Step 2:** 加入100 $\mu$ L SBG混匀并在30 $^{\circ}$ C孵育反应7 cadences (45 seconds/cadence), 约5:15min, 反应结束后使用system wash buffer2进行清洗去除未结合的物质, 随后, 磁珠-免疫复合物将由50 $\mu$ L的荧光底物 (RGP) 充分重悬后加入到检测光盘 (Disc, Quanterix) 中的微孔阵列中, 带免疫复合物信号的磁珠将落入到检测光盘中的微孔中, 之后导入密封矿物油 (Sealing Oil, Quanterix) 封闭微孔并推走未落入微孔中的磁珠, 随后开始荧光成像拍照检测磁珠表面的信号强度; 检测实验完成后仪器将自动分析计算待测样本中的标志蛋白含量;