

Cytokine 4-Plex B(C4PB)

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-17A (IL-17A)、白细胞介素4(IL-4)、白细胞介素13(IL-13)、白细胞介素5(IL-5)。IL-17A 的主要作用是其参与诱导和介导促炎反应。它通过增加各种组织中的趋化因子产生来作为延迟型反应的有效介质招募单核细胞和嗜中性粒细胞到炎症部位，如干扰素 $\gamma$ 。白细胞介素-17A 家族与许多免疫/自身免疫相关疾病有关，包括类风湿性关节炎、哮喘、狼疮、同种异体移植排斥、抗肿瘤免疫和最近的牛皮癣。IL-4通过与IL-4受体或受体复合物结合，IL-4具有许多生物学功能。它促进细胞增殖，存活和免疫球蛋白类转换为IgG4和IgE在人B细胞中，通过初始CD4+ T细胞获得Th2表型，肥大细胞，嗜酸性粒细胞和嗜碱性粒细胞的引发和趋化性以及上皮细胞的增殖和活化。IL-4在过敏性炎症，哮喘和自身免疫性疾病的发展中起重要作用。IL-13主要作用包括下调巨噬细胞活性(降低促炎细胞因子的产生)和介导过敏反应。它由许多细胞类型分泌，但主要由活化的T细胞，特别是T辅助性2型细胞。IL-13以类似于IL-4的方式影响免疫细胞，但更多地与通过受体诱导的生理变化有关，该受体包括IL-4受体的 $\alpha$ 链和至少一个或两个已知的IL-13特异性结合链。IL-13是过敏性哮喘的中心介质，其中调节嗜酸性粒细胞炎症，粘液分泌和气道高反应性。因此，IL-13已成为过敏性疾病的治疗靶点，几种抗IL-13抗体正被评估为治疗哮喘。对IL-13效应功能的操纵也可能被证明对治疗一些癌症如B细胞慢性淋巴细胞白血病和霍奇金氏病有用，其中IL-13调节细胞凋亡或肿瘤细胞生长。IL-5诱导B细胞分化为免疫球蛋白分泌细胞，并且是嗜酸性粒细胞生长，分化和活化的重要因素。IL-5，GM-CSF和IL-3包含B共同(Bc)细胞因子家族，因为受体共享与细胞因子特异性 $\alpha$ 链复合的共同B链而得名。IL-3/IL-5/GM-CSF受体的激活导致JAK/STAT途径的快速激活。IL-5和IL-5受体是治疗嗜酸性粒细胞性哮喘的治疗性抗体的靶标，并参与对草花粉的粘膜过敏反应中的2型炎症。

Simoa Cytokine 4-Plex B Advantage PLUS Reagent Kit 104997

试剂盒描述	
可检测因子	IL-17A、IL-4、IL-13、IL-5
实验方法	2 step digital immunoassay
算法	4-parameter logistic curve fit, 1/y <sup>2</sup> 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℃	包被捕获抗体的磁珠
Detector	1瓶	2-8℃	生物素化的检测抗体
SBG	1瓶	2-8℃	链霉亲和素- $\beta$ -半乳糖苷酶
RGP	3瓶	2-8℃	反应底物
Activation Buffer	1瓶	2-8℃	反应底物的激活缓冲液
Lyophilized Calibrator Concentrate	1瓶	2-8℃	冻干标准品
Lyophilized Control 1 Concentrate	1瓶	2-8℃	冻干质控内参1
Lyophilized Control 2 Concentrate	1瓶	2-8℃	冻干质控内参2
Calibrator Diluent	1瓶	2-8℃	标准品稀释液
Control Diluent	1瓶	2-8℃	质控内参稀释液
Sample Diluent	1瓶	2-8℃	样本稀释液

关键检测参数 (pg/mL)		
LL0Q (定量下限)	IL-17A	0.008
	IL-4	0.01
	IL-13	0.034
	IL-5	0.01
LOD (检测限)	IL-17A	0.002
	IL-4	0.003
	IL-13	0.004
	IL-5	0.004
动态检测范围 (原样浓度范围)	EDTA血浆/血清	IL-17A 0 - 48
		IL-4 0 - 40
		IL-13 0 - 60
		IL-5 0 - 60

其他相关资料	
<a href="#">Cytokine 4-Plex B (C4PB) Advantage Plus Data Sheet</a>	
<a href="#">Cytokine 4-Plex B (C4PB) Advantage PLUS Kit 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℃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℃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；

样本内源性水平 (pg/mL)						
检测因子	样本类型	样本数量	平均值	中间值	>LOD	>LL0Q
IL-17A	血清	20	0.093	0.064	90%	65%
	EDTA血浆	20	0.077	0.059	95%	65%
IL-4	血清	20	<LOD	<LOD	0%	0%
	EDTA血浆	20	<LOQ	<LOQ	5-45%	0%
IL-13	血清	20	0.254	0.186	100%	60%
	EDTA血浆	20	0.214	0.148	100%	65%
IL-5	血清	20	0.23	0.191	100%	95%
	EDTA血浆	20	0.194	0.144	95%	75%

