

# **DKK-1**

ENZYME IMMUNOASSAY FOR THE QUANTITATIVE DETERMINATION OF HUMAN DKK-1 IN SERUM  
AND CELL CULTURE SUPERNATANT CAT. NO. BI-20412. 12 X 8 TESTS

ENZYM IMMUNOASSAY ZUR QUANTITATIVEN BESTIMMUNG VON HUMAN DKK-1 IN SERUM UND  
ZELLKULTURÜBERSTAND  
KAT. NR. BI-20412. 12 X 8 TESTE


FOR RESEARCH USE ONLY  
NOT FOR USE IN DIAGNOSTIC PROCEDURES

rev.no. 091215 (replacing 080528)

Biomedica Medizinprodukte GmbH & Co KG, A-1210 Wien, Divischgasse 4  
Tel. +43/1/291 07 45, Fax +43/1/291 07 85, E-mail [export@bmgrp.at](mailto:export@bmgrp.at)

**BIOMEDICA**  

---

**BIOMEDICA**  
**GRUPPE**   
[www.bmgrp.com](http://www.bmgrp.com)  
1/12

## **CONTENT / INHALT**

- 1) ENGLISH ..... 3**
- 2) DEUTSCH ... 7**

*Additional information on our products is available on our website.  
Zusätzliche Information zu unseren Produkten ist auf unserer Homepage erhältlich.*

**[www.bmgrp.com](http://www.bmgrp.com)**

## 1) INTRODUCTION

Dickkopf-1 (DKK-1) is a 28,672 Da secreted protein that acts as soluble inhibitor of the WNT signalling pathway. This pathway contains lipid-modified glycoproteins that activate cell surface receptor-mediated signal transduction to regulate cell activities like: cell fate, proliferation, migration, polarity and gene expression. DKK-1 regulates developmental processes of all kinds. Thus, DKK-1 is also involved in the regulation of bone metabolism as it effects osteoblast differentiation and in regulation of tumourgenetic activity.

### POSSIBLE INDICATIONS

- Osteoarthritis
- Osteoporosis
- Colon Carcinomas
- Multiple Myelomas
- Bone Metastases

## 2) CONTENTS OF THE KIT

CONT	KIT COMPONENTS	QUANTITY
PLATE	anti human DKK-1 pre-coated microtiter strips in strip holder	12 x 8 tests
WASHBUF	Wash buffer concentrate 20x, natural cap	1 x 50 ml
ASYBUF	Assay buffer, red cap, ready to use	1 x 40 ml
AB	biotinylated anti DKK-1 antibody, green cap, lyophilised	2 x lyophilised
STD	Standards, (0; 3.125; 6.25; 12.5; 25; 50 pmol/l), white caps, lyophilised	6 vials lyophilised
CTRL	Control, yellow cap, lyophilised, exact concentration after reconstitution see label	1 vial lyophilised
CONJ	Conjugate, (streptavidin-HRPO), amber cap, ready to use	1 x 22 ml
SUB	Substrate (TMB solution), blue cap, ready to use	1 x 22 ml
STOP	STOP solution, white cap, ready to use	1 x 7 ml

## 3) ADDITIONAL MATERIAL ADDED TO THE KIT

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

## 4) MATERIAL AND EQUIPMENT REQUIRED BUT NOT SUPPLIED

- 1.5 ml reaction vials
- Precision pipettes calibrated to deliver 50-1000 µl and disposable tips
- ELISA reader for absorbance at 450 nm (or from 450 nm to 620 nm)
- Graph paper or software for calculation of results
- Plate washer is recommended for washing
- Distilled or deionised water

## 5) REAGENTS AND SAMPLE PREPARATION

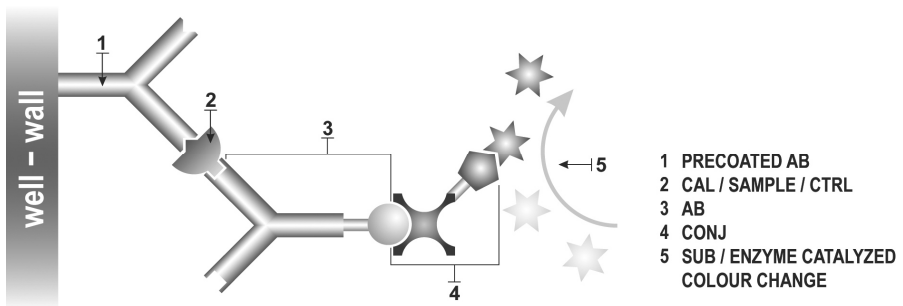
The assay has been validated for the use of serum samples and cell culture supernatants.

DKK-1 has a good stability in whole blood and serum, showing a mean loss after 24hrs at RT of 19% and 13% respectively. Serum samples should be stored aliquoted at -20°C or -70°C. Avoid freeze-thaw cycles. 5 freeze-thaw cycles decreased the signals by approx. 23%. EDTA and Heparin plasma show significantly lower levels than serum. Lipemic or hemolyzed samples may give erroneous results. Samples should be mixed well before assaying.

Reconstitution / Handling:

- **Samples:** **Samples must be diluted 1:4 prior to use in the assay.** Dilute samples 1:4 (1+3) in assay buffer (e.g 50 µl sample + 150 µl assay buffer). We recommend duplicates for all values.
- **STD (Standards) and CTRL (Control):** Each in 400 µl deionised or distilled water at room temperature (18-26°C) for 15 min. Reconstituted STD and CTRL are stable at -20°C until expiry date on label, avoid more than 3 freeze-thaw cycles.  
For cell culture measurements reconstitute STD and CTRL in cell culture medium
- **AB (Antibody):** One vial is reconstituted in 11 ml assaybuffer and handled exactly like STD & CTRL. The whole amount of reconstituted antibody must be used within one run because the diluted antibody is not stable.
- **WASHBUF (Wash buffer):** Dilute the concentrate 1:20: e.g. 50 ml WASHBUF + 950 ml distilled water. Crystals in the buffer concentrate will dissolve at room temperature. The diluted buffer is stable at 2-8°C until expiry date stated on label. Use only diluted WASHBUF (Wash buffer) for the assay performance:

## 6) PRINCIPLE OF THE ASSAY:



## 7) ASSAY PROTOCOL

All reagents and samples must be at room temperature (18-26°C) before they can be used in the assay.

Mark position for BLK/STD/SAMPLE/CTRL (Blank/Standard/Sample/Control) on the protocol sheet.

Take microtiter strips out of the alu bag, reserve a minimum of one well as Blank. Store unused strips with desiccant at 2-8°C in the alu bag. Strips are stable until expiry date stated on the label.

Add 50 µl STD/SAMPLE/CTRL (Standard/Sample/Control) in duplicate into respective wells, except blank.

Add 200 µl AB (biotinylated anti DKK-1 antibody) into each well, except blank, swirl gently.

**Cover tightly and incubate over night (18-24h) at room temperature (18-26°C) in the dark.**

Aspirate and wash wells 5x with 300 µl diluted WASHBUF (Wash buffer), remove remaining WASHBUF by hitting plate against paper towel after the last wash.

Add 200 µl CONJ (Conjugate) into each well.

**Cover tightly and incubate for 1 hour at room temperature (18-26°C) in the dark.**

Aspirate and wash wells 5x with 300 µl diluted WASHBUF (Wash buffer), remove remaining WASHBUF by hitting plate against paper towel after the last wash.

Add 200 µl SUB (Substrate) into each well.

**Incubate for 30 min at room temperature (18-26°C) in the dark.**

Add 50 µl STOP (Stop solution) into each well.

Measure absorbance immediately at 450 nm with reference 620 nm, if available.

## 8) CALCULATION OF RESULTS

Subtract the blank extinction from all other values. Construct the standard curve from the standard values. Use commercially available software or graph paper. Obtain sample concentration from this standard curve. The assay has been evaluated using a 4PL algorithm. Different curve fitting methods need to be evaluated by the user. The concentration of the samples will be calculated from the standard curve. The dilution factor 1:4, or other respective dilution factors, must be considered for the calculation of results.

The quality control protocol supplied with the kit shows the results of the final release QC for each kit. Data for optical density obtained by customers may differ due to various influences and/or due to the normal decrease of signal intensity during shelf life. However, this does not affect validity of results as long as an optical density of 1.50 is obtained for the standard with the highest concentration.

## 9) ASSAY CHARACTERISTICS

Reference data:	Serum samples of 18 blood donors had a mean DKK-1 level of 52.6 pmol/l (median 45.7 pmol/l, SD 20 pmol/l) Each laboratory should establish its own reference data.
Standard range:	0; 3.125; 6.25; 12.5; 25; 50 pmol/l
Conversion:	1 pmol/l = 28.68 pg/ml
Sample volume:	50 µl human serum
Detection Limit:	(0 pmol/l + 3 SD): 0.38 pmol/l
Incubation time:	Overnight / 1 h / 30 min

## 10) PRECISION

### SAMPLE VALUES WERE CORRECTED FOR DILUTION

Intra-Assay (n=16)		
Mean (pmol/l)	19.1	10.1
SD	1.2	0.8
CV%	7	8

Intra-Assay (n=10)		
Mean (pmol/l)	71.2	159.6
SD	6.2	20
CV%	9	12

## 11) TECHNICAL HINTS

- Do not mix or substitute reagents with those from other lots or sources.
- Do not mix stoppers and caps from different reagents or use reagents between lots.
- Do not use reagents beyond expiration date. Protect reagents from direct sunlight.
- Substrate solution should remain colourless until added to the plate.
- To ensure accurate results, proper adhesion of plate sealers during incubation steps is necessary.
- Avoid foaming when mixing reagents.

## 12) PRECAUTIONS

All test components of human source were tested with 3<sup>rd</sup> generation tests against HIV-Ab and HBsAg, and were found negative. Nevertheless, they should be handled and disposed as if they were infectious.

All liquid reagents contain 0.01% Proclin 300 as preservative.

Avoid contact with skin and mucous membrane. Proclin 300 is not toxic in concentrations used in this kit. It may cause allergic skin reactions – avoid contact with skin or eyes.

- Do not pipette by mouth.
- Do not eat, drink, smoke or apply cosmetics where reagents are used.
- Avoid all contact with the reagents by using gloves. Flush with water immediately after contact!!

## 13) LITERATURE

- "Dickkopf-1 is a master regulator of joint remodeling"  
D. Diarra et al., Nature medicine 2007 Feb;Vol 2 no 2
- "Serum concentration of Dickkopf-1 protein are increased in patients with multiple myelomas and reduced after autologous stem cell transplantation".  
M.C. Politou et al., Int. J. of Cancer 2006 Oct 1;119(7): 1728-31
- "Mechanism of bone metastasis".  
G.D Roodmann, N Engl J Med (2004); 350:1655-64
- "WNT signalling in osteoblasts and bone disease".  
J.J. Westendorf et al., Gene (2004) 341;19-39
- "A functional genomics approach for the identification of putative tumor suppressor gene. Dickkopf-1 as suppressor of Hela cell transformation".  
A.M. Mikheev et al., Carcinogenesis (2004) pp47-59

### 1) EINLEITUNG

Dickkopf-1(DKK-1) ist ein 28.672 Da extrazelluläres Protein, das im WNT Signalweg als Inhibitor fungiert. Dieser Signalweg besteht aus lipid-modifizierten Glykoproteinen, welche Zellmembran-vermittelte Signaltransduktionen aktivieren. Die WNT Signalkaskade ist in verschiedene Zellaktivitäten involviert, wie die Lebensdauer, Proliferation, Zellmigration, Polarität und Genexpression. Außerdem ist DKK-1 maßgeblich an der Steuerung von Entwicklungsprozessen beteiligt. Weiters spielt DKK-1 in der Regulation des Knochenstoffwechsels eine Rolle, da es die Differenzierung von Osteoblasten inhibiert. DKK-1 wird auch von verschiedenen Tumoren sezerniert.

### MÖGLICHE INDIKATIONEN

- Osteoarthritis
- Osteoporose
- Kolonkarzinom
- Multiples Myelom
- Knochenmetastasen

### 2) INHALT DES KITS

CONT	KIT KOMPONENTEN	MENGE
PLATE	Anti human DKK-1, beschichtet auf Mikrotiterplattenstreifen im Streifenhalter. Verpackt im Alu Säckchen mit Trockenmittel	12 x 8 Teste
WASHBUF	Waschpuffer, 20fach Konzentrat, durchsichtige Kappe	1 x 50 ml
ASYBUF	Assay Puffer, rote Kappe, gebrauchsfertig	1 x 40 ml
AB	Biotinylierter anti DKK-1Antikörper, grüne Kappe, lyophilisiert	2 x lyophilisiert
STD	Standards, (0; 3,125; 6,25; 12,5; 25; 50 pmol/l), weiße Kappen, lyophilisiert	6 x lyophilisiert
CTRL	Kontrolle, gelbe Kappe, lyophilisiert, exakte Konzentration siehe Etikett	1 x lyophilisiert
CONJ	Konjugat, (Streptavidin-HRPO), braune Kappe, gebrauchsfertig	1 x 22 ml
SUB	Substrat (TMB Lösung), blaue Kappe, gebrauchsfertig	1 x 22 ml
STOP	Stopp Lösung, weiße Kappe, gebrauchsfertig	1 x 7 ml

### 3) ZUSÄTZLICHES MATERIAL IM KIT

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

### 4) ZUSÄTZLICH BENÖTIGTES MATERIAL UND GERÄTE

- Reaktionsgefäße 1,5 ml
- Kalibrierte Präzisionspipetten für 50-1000 µl, inkl. Pipettenspitzen
- Mikrotiterplattenphotometer mit 450 nm Filter (620 nm Referenz)
- Millimeterpapier oder Software
- Mikrotiterplatten Wascher wird empfohlen
- Destilliertes oder deionisiertes Wasser

## 5) REAGENZIEN UND PROBENVORBEREITUNG

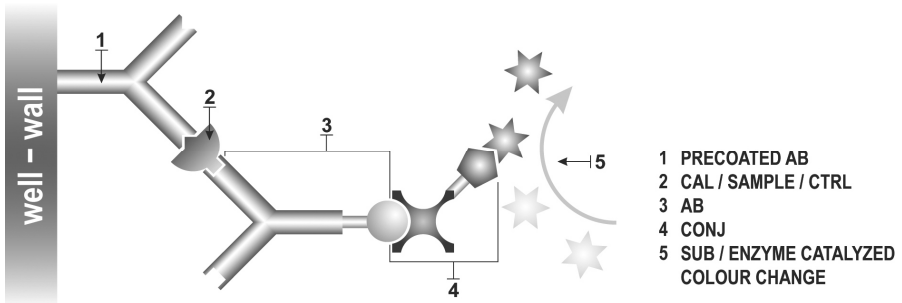
Der Test ist für Serumproben und Zellkulturüberstände validiert.

DKK-1 weist eine gute Stabilität in Vollblut und Serum auf, mit mittleren Verlusten von 19% bzw 13% nach 24-stündiger Aufbewahrung bei RT. Die Serumproben sollten aliquotiert bei -20°C oder -70°C gelagert werden. Vermeiden Sie Frier-Tau Zyklen. 5 Frier-Tau Zyklen reduzieren das Signal um etwa 23%. EDTA und Heparinplasmen weisen signifikant niedrigere Werte als Serum auf. Lipämische und hämolytische Proben können falsche Ergebnisse liefern. Proben vor Verwendung gut mischen.

Rekonstitution / Handhabung:

- **Proben:** Die Proben müssen für den Test 1:4 (1+3) in ASYBUF verdünnt werden (z.B.: 50 µl Probe + 150 µl Assay puffer). Wir empfehlen Doppelbestimmungen.
- **STD (Standards) und CTRL (Kontrolle):** Lösen Sie das Lyophilisat in jeweils 400 µl destilliertem Wasser bei Raumtemperatur (18-26°C) für 15 min. Die rekonstituierten STD und CTRL sind bei -20°C bis zum Ablaufdatum haltbar. Vermeiden Sie Frier-Tau Zyklen.  
Zur Messung von Zellkulturüberständen rekonstituieren Sie STD and CTRL in Zellkulturmedium.
- **AB (Antikörper):** Ein Fläschchen wird in 11 ml Assay Puffer aufgelöst und 15 min bei Raumtemperatur (18-26°C) stehen gelassen. Der rekonstituierte AB muss in einem Testrun verbraucht werden, da er nicht stabil ist.
- **WASHBUF (Waschpuffer):** Das mitgelieferte Konzentrat wird 1:20 verdünnt (zB. 50 ml WASHBUF + 950 ml destilliertes Wasser). Kristalle im Pufferkonzentrat lösen sich bei Raumtemperatur auf. Der verdünnte Puffer ist bei 2-8°C bis zum Ablaufdatum haltbar. Im Testsystem darf nur verdünnter WASHBUF (Waschpuffer) verwendet werden.

## 6) TESTPRINZIP



## 7) TESTPROTOKOLL

Im Test dürfen nur Reagenzien und Proben verwendet werden, welche Raumtemperatur (18-26°C) aufweisen.  
Markieren Sie die Positionen für BLK/STD/PROBE/CTRL (Leerwert/Standard/Probe/Kontrolle) am Protokoll Blatt.  
Nehmen Sie die benötigten Mikrotiterstreifen aus dem Alu Säckchen. Mindestens 1 Well für den Leerwert reservieren.  
Nicht verwendete Mikrotiterstreifen können mit Trockenmittel im Alu Säckchen bis zum angegebenen Ablaufdatum gelagert werden.

Pipettieren Sie 50 µl STD/SAMPLE/CTRL (Standard/Probe/Kontrolle) in Doppelbestimmung in die Mikrotiterstreifen, mit Ausnahme des Leerwertes

Pipettieren Sie 200 µl AB (biotinylierter DKK-1 Antikörper) in alle Wells, mit Ausnahme des Leerwertes, gut mischen.

**Streifen abdecken und über Nacht (18-24 Stunden) bei Raumtemperatur (18-26°C) im Dunkeln inkubieren.**

Inhalt der Wells verwerfen und 5x mit 300 µl verdünntem WASHBUF (Waschpuffer) waschen.

Nach dem letzten Waschschrift Reste von Waschpuffer durch Ausklopfen auf saugfähigem Papier entfernen.

Pipettieren Sie 200 µl CONJ (Konjugat) in alle Wells.

**Streifen abdecken und 1 Stunde bei Raumtemperatur (18-26°C) im Dunkeln inkubieren.**

Inhalt der Wells verwerfen und 5x mit 300 µl verdünntem WASHBUF (Waschpuffer) waschen.

Nach dem letzten Waschschrift Reste von Waschpuffer durch Ausklopfen auf saugfähigem Papier entfernen.

Pipettieren Sie 200 µl SUB (Substrat) in alle Wells.

**30 Minuten bei Raumtemperatur (18-26°C) im Dunkeln inkubieren.**

Pipettieren Sie 50 µl STOP (Stopplösung) in alle Wells.

Extinktion unmittelbar bei 450 nm messen, mit 620 nm als Referenz, wenn möglich.

## 8) BERECHNUNG DER ERGEBNISSE

Die OD des Leerwertes ist von allen Wells abzuziehen. Konstruieren Sie eine Standardkurve aus den Werten der Standards unter Verwendung von kommerziell erhältlichem Millimeterpapier oder einer geeigneten Software. Das Testsystem wurde mit einem 4 Parameter Algorithmus evaluiert. Andere Auswerte Algorithmen müssen vom Verwender evaluiert werden. Die Konzentration der Proben wird aus der Standardkurve abgelesen.

Die Probenverdünnung 1:4, oder eventuell andere verwendete Verdünnungen, müssen für die Berechnung der Ergebnisse berücksichtigt werden.

Auf dem beige packten QC Protokoll sind die Resultate bei der QC Freigabe des Kits vermerkt. Vom Verwender erhaltene Daten der Optischen Dichte (OD) können abweichend sein, bedingt durch verschiedene Einflüsse und/oder dem normalen Signalverlust des Kits während der Laufzeit. Dieser mögliche Signalverlust hat keinen Einfluss auf die Gültigkeit der Resultate, so lange die OD des höchsten Standards den Wert 1,50 erreicht.

## 9) TESTMERKMALE

Referenzwerte:	Serumproben von 18 Blutspendern zeigten eine mittlere DKK-1 Konzentration von 52,6 pmol/l. (Median 45,7 pmol/l, SD 20 pmol/l) Jedes Labor sollte eigene Referenzwerte erheben.
Standardbereich:	0; 3,125; 6,25; 12,5; 25; 50 pmol/l
Umrechnung:	1 pmol/l = 28,68 pg/ml
Probenvolumen:	50 µl Serum
Detektionsgrenze:	(0 pmol/l + 3 SD): 0,38pmol/l
Inkubationszeiten:	über Nacht / 1 Std / 30 Min

## 10) PRÄZISION

### MEßWERTE MIT VERDÜNNUNGSFAKTOR KORRIGIERT

Intra-Assay (n=16)		
Mittelwert (pmol/l)	19,1	10,1
SD	1,2	0,8
VK%	7	8

Inter-Assay (n=10)		
Mittelwert (pmol/l)	71,2	159,6
SD	6,2	20
VK%	9	12

## 11) TECHNISCHE MERKMALE

- Reagenzien von verschiedenen Lots oder Tests dürfen nicht gemischt werden.
- Stöpsel oder Verschlüsse von verschiedenen Reagenzien dürfen nicht vertauscht werden.
- Abgelaufene Reagenzien dürfen nicht verwendet werden. Reagenzien sind vor direktem Sonnenlicht zu schützen.
- Substratlösung muss vor Verwendung farblos sein.
- Mikrotiterstreifen müssen bei den Inkubationen mit Abdeckfolie abgedeckt sein.
- Vermeiden Sie Schaumbildung beim Mischen der Reagenzien.

## 12) VORSICHTSMASSNAHMEN

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

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

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

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

## 13) LITERATUR

- "Dickkopf-1 is a master regulator of joint remodeling"  
D. Diarra et al., Nature medicine 2007 Feb;Vol 2 no 2
- "Serum concentration of Dickkopf-1 protein are increased in patients with multiple myelomas and reduced after autologous stem cell transplantation".  
M.C. Politou et al., Int. J. of Cancer 2006 Oct 1;119(7): 1728-31
- "Mechanism of bone metastasis".  
G.D Roodmann, N Engl J Med (2004); 350:1655-64
- "WNT signalling in osteoblasts and bone disease".  
J.J. Westerdorf et al., Gene (2004) 341;19-39
- "A functional genomics approach for the identification of putative tumor suppressor gene. Dickkopf-1 as suppressor of Hela cell transformation".  
A.M. Mikheev et al., Carcinogenesis (2004) pp47-59

# SYMBOLS



Expiry date / Verfallsdatum / Date de péremption / Data di scadenza / Fecha de caducidad / Data de validade / Uiterste gebruiksdatum / Udløbsdato / Utgångsdatum / Termin Ważności / Lejárati idő / Doba expirácie / Doba expirace



Consider instructions for use / Bitte Gebrauchsanweisung beachten / Consultez la notice d'utilisation / Consultare le istruzioni per l'uso / Consulte las instrucciones de utilización / Consulte as instruções de utilização / Raadpleeg de gebruiksaanwijzing / Se brugsanvisningen / Läs anvisningarna före användning / Proszę przeczytać instrukcję wykonania / Vegyük figyelembe a használati utasításban foglaltakat / Postupujte podľa pokynov na použitie / Postupujte dle návodu k použití



In vitro Diagnostic Medical Device (for in Vitro Diagnostic Use) / In vitro Diagnostikum (zur In-vitro-Diagnostik) / Dispositif médical de diagnostic in vitro (Pour usage diagnostique in vitro) / Dispositivo medico per diagnostica in vitro (per uso diagnostico in vitro) / Dispositivo médico de diagnóstico in vitro (para uso diagnóstico in vitro) / Dispositivo médico para diagnóstico in vitro (Para utilização de diagnóstico "in vitro") / Medisch hulpmiddel voor diagnostiek in vitro (Voor diagnostisch gebruik in vitro) / Medicinsk udstyr til in vitro-diagnostik (Udelukkende til in vitro diagnostisk anvendelse) / Medicinteknisk produkt avsedd för in vitro-diagnostik (För in vitro-diagnostiskt bruk) / Wyrób medyczny do Diagnostyki In Vitro / In vitro orvosdiagnostikai termék / In vitro diagnostický zdravotnícký materiál (určené pre diagnostiku „in vitro“) / In vitro diagnostický zdravotnícký materiál (určeno pro diagnostiku „in vitro“)



Lot-Batch Number / Charge-Chargennummer / Lot-Code du lot / Lotto-Numero di lotto / Lote-Código de lote / Lote-Código do lote / Lot-Partijnummer / Lot-Batchkode / Lot-Satskod / Numer serii / Lot-Batch szám / Číslo šarže / Číslo šarže



Manufactured by / Hergestellt von / Fabriqué par / Prodotto da / Fabricado por / Fabricado por / Vervaardigd door / Fabrikation af / Tillverkad av / Wyprodukowane pr / Gyártotta / Vyrobené / Vyrobeno



Catalogue Number / Bestellnummer / Numéro de référence / Numero di riferimento / Número de referencia / Número de referência / Referentienummer / Referencenummer / Katalognummer / Numer katalogowy / Katalógusszám / Katalógové číslo / Katalogové číslo



Store at between / Lagerung bei zwischen / Conserver à entre / Conservare a tra / Conservar a temp. entre / Armazene a entre / Bewaar bij tussen / Opbevares mellem / Förvaras vid / Przechowywać w / Táróljuk ..... között / Skladujte v rozsahu / Skladujte v rozmezí



Contains sufficient for x tests / Inhalt ausreichend für x Tests / Contient suffisant pour x tests / Contenuto sufficiente per x test / Contiene suficiente para x pruebas / Contém suficiente para x testes / Bevat voldoende voor x bepalingen / Indeholder tilstrækkeligt til x prøver / Innehållet räcker till x analyser / Zawartość na x testów / Tartalma X teszt elegendősége elegendő / Obsahuje materiál pre x testov / Obsahuje materiál pro x testů

# **BI-20412 DKK-1**

## **ASSAY PROTOCOL AND CHECKLIST**

- Bring all reagents to room temperature (18-26°C).
- Prepare reagents and samples as instructed.
- Bring unused and prepared components to the storage temperature mentioned in the package insert.
- Take microtiter strips out of the alu bag and mark positions on the protocol sheet.
- Add 50 µl STD/SAMPLE/CTRL (standard/sample/control) into each well, except blank.
- Add 200 µl AB (biotinylated anti DKK-1 ab) into all wells except blank, swirl gently.
- Cover tightly and incubate over night (18-24 hours) at RT (18-26°C) in the dark.**
- Aspirate and wash wells with 300 µl WASHBUF (Wash buffer) five times. Remove remaining buffer by hitting plate against paper towel.
- Add 200 µl CONJ (Conjugate) into each well.
- Cover tightly and incubate for 1 hour at RT (18-26°C) in the dark.**
- Aspirate and wash wells with 300 µl WASHBUF (Wash buffer) five times. Remove remaining buffer by hitting plate against paper towel.
- Add 200 µl SUB (Substrate) into each well.
- Incubate for 30 minutes at RT (18-26°C) in the dark.**
- Add 50 µl STOP (Stop solution) into each well.
- Read Optical Density at 450 nm with reference 620 nm, if available.