

*产品信息和操作指南*

## **Human IL-10 预包被 ELISA kit**

Cat# : DKW12-1100-048 / DKW12-1100-096

本试剂盒专用于科研，而非用于诊断

**Human IL-10**  
**DKW12-1100**

# 目 录

|                             |    |
|-----------------------------|----|
| 产品简介.....                   | 1  |
| 知识背景.....                   | 1  |
| 试剂盒提供的试剂.....               | 2  |
| 需要实验者自行准备的试剂与仪器.....        | 2  |
| 注意事项.....                   | 3  |
| 试剂的配制.....                  | 5  |
| 操作过程.....                   | 7  |
| 结果分析.....                   | 9  |
| 试剂盒的保存.....                 | 9  |
| 操作步骤一览表.....                | 10 |
| 参考文献.....                   | 11 |
| ELISA 测定中可能会出现的问题及解决方法..... | 12 |
| 预包被 ELISA 试剂盒系列产品.....      | 15 |

## 1、 产品简介:

达优<sup>®</sup>人 IL-10 ELISA 试剂盒是通过酶联免疫吸附技术，体外定量检测人血清、血浆、缓冲液或细胞培养液中的 IL-10，可同时检测天然的和重组的 IL-10。本试剂盒为预包被板，“夹心一步”完成，整个过程孵育时间不超过 3 小时，洗涤 6 次，操作时间大大减少。本试剂盒专用于科研，而非用于诊断。

使用前请仔细阅读说明书并检查试剂盒组分，若有任何疑问请与达科为生物工程有限公司联系，E-mail: RD@dakewe.com.

检测范围：400-12.5 pg/mL

灵敏度：5 pg/mL

重复性：板内、板间变异系数均 < 10%。

## 2、 知识背景:

白细胞介素-10 (Interleukin-10, IL-10) 是一种多效的细胞因子。其由一系列的细胞分泌，包括活化的 Th2 细胞、胚胎胸腺细胞、单核/巨噬细胞、角质化细胞、B 细胞和神经胶质细胞，通过效应细胞如 NK 细胞和单核/巨噬细胞抑制一系列细胞因子的分泌包括 IL-1、GM-CSF、TNF、IL-6、IL-8、IL-12、IFN- $\gamma$  等 (1-3)。

### 3、 试剂盒提供的试剂：

| 试剂                     | 规格             | 配制                                    |
|------------------------|----------------|---------------------------------------|
| Cytokine standard      | 2/1 瓶*         | 干粉状，按瓶上说明操作                           |
| Biotinylated antibody  | 2/1 瓶*         | 1: 50 用 Dilution buffer R (1×)<br>稀释  |
| Streptavidin-HRP       | 2/1 瓶*         | 1: 100 用 Dilution buffer R (1×)<br>稀释 |
| Dilution buffer R (1×) | 3/2 瓶*         | 即用型                                   |
| Washing buffer (50×)   | 1 瓶            | 1 : 50 用蒸馏水稀释                         |
| TMB                    | 1 瓶            | 即用型                                   |
| Stop solution          | 1 瓶            | 即用型                                   |
| Precoated ELISA plate  | 8×12 或<br>8×6* | 即用型                                   |
| 封板膜                    | 2/1 张*         | 即用型                                   |
| 说明书                    | 1 份            |                                       |

\*: 96/48 Tests

### 4、 需要实验者自行准备的试剂与仪器：

1. 酶标仪（建议参考仪器使用说明提前预热）
2. 微量加液器及吸头：P10，P50，P100，P200，P1000
3. 蒸馏水或去离子水
4. 全新滤纸
5. 漩涡振荡器和磁力搅拌器

## 5、 注意事项:

1. 试剂应按瓶上标签说明储存，使用前 **室温平衡** 20-30 分钟。  
实验前室温平衡对 Washing buffer (50×)、Dilution buffer R (1×)、Precoated ELISA plate 和 TMB 有重要意义。
2. 冻干标准品冰上操作，按照标签说明溶解干粉，**充分混匀**，按照一次使用量分装，-20℃贮存，避免反复冻融。
3. 预包被板条使用前，请恢复到室温后再打开外包装袋，实验中不用的板条立即放回包装中，**密闭封口**，4℃可保存 1 个月。其余不用试剂应包装好或盖好。
4. Washing buffer (50×) 在 4℃保存可能有**结晶析出**，使用前务必使结晶完全溶解后（如加热、平衡温度后混匀等）再配置成 Washing buffer (1×) 工作液。
5. HRP 和检测抗体体积量很小，使用前请**高速短暂离心**管子，以使管壁或瓶盖的液体沉积到管底。
6. 实验操作中请使用一次性的吸头，避免交叉污染。
7. 使用前检查试剂盒内各种试剂；试剂稀释、加样和中止反应充分混匀或者摇匀对实验结果尤为重要，最好使用低速频率振荡器或者反应过程中每 15 分钟手工摇匀一次。
8. 实验板孔加入试剂的顺序应一致，以保证所有反应孔的孵育时间一致。
9. 使用洁净的塑料容器盛装洗涤液。

10. 洗涤过程中反应孔中残留的洗涤液应在**滤纸**上充分拍干，滤纸上看不到水印。勿将滤纸直接放入反应孔中吸水。
11. TMB 对光敏感，避免长时间暴露于光下，避免金属接触影响结果。**有毒，避免用手接触!** 准备使用的 TMB 若变为蓝色，表明 TMB 已经污染，请丢弃。请在终止反应后 10 分钟内读取 OD 值。
12. 请严格按照说明书标明的时间和温度进行孵育。冬季室内温度偏低，请使用**恒温箱或培养箱孵育**为好。
13. 试剂盒在保质期内使用，且不同批号试剂不要混用。
14. 400 pg/mL 以上的结果为非线性的，根据此标准曲线无法得到精确的结果。大于 400 pg/mL IL-10 的样品应以 Dilution buffer R(1×)稀释后重做。在结果分析时，结合考虑相应的稀释度。
15. 特异性：不与人其它细胞因子反应。

## 6、试剂的配制：

1. 提前 20 分钟将 **Washing buffer(50×)**和**即用溶液**从试剂盒中取出，以平衡至室温。
2. **Cytokine standard:** Standard 为冻干粉。先按标签说明将冻干粉溶解，静置 5-10 分钟，再用 **Dilution buffer R (1×)** 稀释到推荐检测浓度。标准品溶解后混匀，准确倍比稀释，严格操作非常重要。标准品的倍比稀释最好在进口的或者硅化的 EP 管中完成，减少非特异性吸附。在实验孔内进行倍比稀释时，注意操作规范，枪头勿刮划预包装的孔底。母液若没有用完请按照一次用量分装，-20℃保存。  
\* 推荐标准品浓度梯度为：400 pg/mL、200 pg/mL、100 pg/mL、50 pg/mL、25 pg/mL、12.5 pg/mL。
3. **Biotinylated antibody:** 1 : 50 用 **Dilution buffer R(1×)**稀释，混匀制成 **1×antibody** 工作液。
4. **Streptavidin-HRP** : 1 : 100 用 **Dilution buffer R(1×)**稀释，混匀制成 **1×HRP** 工作液。

**5. Washing buffer(50×):** 1 : 50 用蒸馏水稀释。

**6. 即用型溶液**

➤ **Dilution buffer R(1×):** 用于稀释 **Biotinylated antibody**、**Streptavidin-HRP** 和 **Cytokine standard**。

➤ **TMB**

➤ **Stop solution**



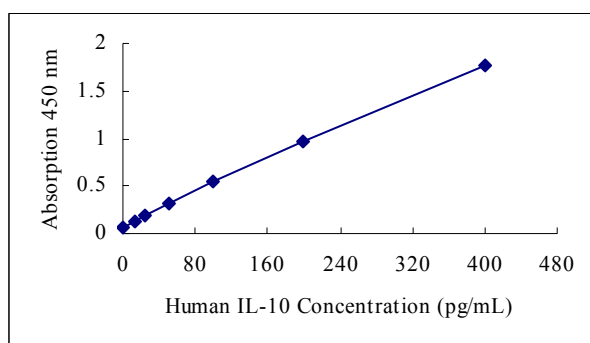
## 7、操作过程：

1. 使用前，将所有试剂充分混匀，避免产生泡沫。
2. 根据实验孔（空白和标准品）数量，确定所需的板条数目。样品（含标准品）和空白都应做复孔。
3. 加样：100  $\mu\text{L}/\text{well}$  加入稀释后的 Cytokine standard 至标准品孔，100  $\mu\text{L}/\text{well}$  加入样品至样品孔，100 $\mu\text{L}/\text{well}$  加 Dilution buffer R (1 $\times$ )入空白对照孔。
4. 加检测抗体：50  $\mu\text{L}/\text{well}$  加入稀释后的 Biotinylated antibody。混匀后盖上封板膜，室温（18-25 $^{\circ}\text{C}$ ）孵育 2 小时。
5. 洗板：扣去孔内液体，300  $\mu\text{L}/\text{well}$  加入 1 $\times$ washing buffer；停留 1 分钟后弃去孔内液体。重复 3 次，每一次在滤纸上扣干。
6. 加酶：100  $\mu\text{L}/\text{well}$  加入 Streptavidin-HRP。盖上封板膜，室温（18-25 $^{\circ}\text{C}$ ）孵育 20 分钟。
7. 洗板：重复步骤 5。
8. 显色：100  $\mu\text{L}/\text{well}$  加入 TMB，室温（18-25 $^{\circ}\text{C}$ ）避光温育 5-30 分钟之间，根据孔内颜色的深浅（深蓝色）来判定终止反应。通常显色 10-20 分钟可以达到很好的效果。
9. 终止反应：迅速 100  $\mu\text{L}/\text{well}$  加入 Stop solution 终止反应。

**10. 读板:**终止后 10 分钟内,用检测波长(measurement wavelength) 450 nm 读值。推荐用双波长即检测波长 ( measurement wavelength ) 450 nm、参考波长或校正波长 ( reference wavelength ) 610-630 nm 同时读板, 测量结果会更准确。

## 8、结果分析：

1. 有两种设定空白对照的方案：
  - 1) 将 TMB 空白显色孔设为对照。所有的标准品和样品的吸光值减去空白孔的吸光值后，在坐标纸上画出曲线，以吸光值作为纵坐标，以浓度作为横坐标。
  - 2) 将零孔设为对照。得到的数据可以直接在坐标纸上画出曲线。
2. 根据样品的吸光值在坐标上找出对应的浓度。用户也可以使用各种应用软件来计算。若样品 OD 值高于标准曲线上限，应适当稀释后重测，计算浓度时应乘以稀释倍数。



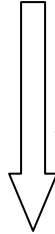
**注意：**本图仅供参考，应以同次试验标准品所绘标准曲线来计算标本含量。

## 9、试剂盒的保存：

**4°C 可稳定保存 6 个月。**

## 10、操作步骤一览表：

加样品或配好的标准品，设置对照，**100  $\mu$ L/well**



无需孵育，直接进行下一步操作

加生物素标记的抗体，**50  $\mu$ L/well**，混匀



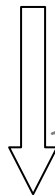
室温孵育 2 小时；  
洗 3 次

加亲和素-**HRP** 标记物，**100  $\mu$ L/well**



室温孵育 20 分钟；  
洗 3 次

加 **TMB** 显色液，**100  $\mu$ L/well**



室温避光 5-30 分钟

加 **Stop solution** **100  $\mu$ L/well**，终止反应



10 分钟内读板

在  $\lambda=450 \text{ nm}$  处读取吸光值

## 11、参考文献

- (1) Moore, K.W. et al. (1993) *Annu. Rev. Immunol.* 11:165.
- (2) Mosmann, T.R. (1994) *Adv. Immunol.* 56:1.
- (3) Mizuno, T.R. et al. (1994) *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 205:1907.
- (4) 左慧敏 等. *中国实用儿科杂志*,2008,23,269-271.
- (5) 胡海棠 等. *实用医学杂志*,2009,25,1210-1213.
- (6) 张劫 等. *中华结核和呼吸杂志*, 2009,32(8):572-575
- (7) M. Wang et al. *Basic Immunology.* 2008, 68:287-296.
- (8) 刘平 等. *第三军医大学学报*, 2009 31(13)
- (9) 邸石 等. *武汉大学学报(医学版)* . 2007,28(3):389-391
- (10) 李春梅 等. *山东医药.* 2010,50(8):44-45
- (11) 丁晓凌 等. *现代免疫学*,2008,28(6):483-486
- (12) 覃筱燕 等. *中国药学杂志.* 2010, 45(4): 264-267.

## 12、ELISA 测定中可能会出现的问题及解决方法

| 问 题           | 可能的原因  | 解决方法   |
|---------------|--|--|
| 1. 非常弱<br>的结果 | <p>(1) 温育的时间或温度不够；</p> <p>(2) 显色反应时间太短；</p> <p>(3) 所用配制缓冲液的蒸馏水有问题；</p> <p>(4) 加入抗体/酶的稀释液浓度太低；</p> <p>(5) 酶标仪滤光片不正确；</p> <p>(6) 不正确的试剂储存方式；</p> <p>(7) 试剂盒没有充分平衡；</p> <p>(8) 移液器吸液量不足，吸嘴内壁挂水太多或内壁不清洁。</p> | <p>a. 校正温育箱温度；</p> <p>b. 校正定时钟准确定时；</p> <p>c. 使用新鲜合格的蒸馏水；</p> <p>d. 按照说明书保存试剂盒和准确配制工作液；</p> <p>e. 试剂室温平衡至少 20 分钟，确保所有试剂已平衡至室温（约 25℃）；</p> <p>f. 校正移液器，吸嘴要配套，装吸嘴时要紧密，吸嘴内壁要清洁，最好一次性使用。</p> |

|                            |   |  |
|----------------------------|---|--|
| <p>2. 标准曲线和测定的重复性差</p>     | <p>这是典型的由测定操作引起的问题，包括</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>(1) 加样本及试剂量不准；孔间不一致；</li> <li>(2) 加样过快，孔间发生污染；</li> <li>(3) 加错样本；</li> <li>(4) 加样本及试剂时，加在孔壁上部非包被区；</li> <li>(5) 不同批号试剂盒中组分混用；</li> <li>(6) 温育时间、洗板、显色时间不一致；</li> <li>(7) 孔内污染杂物；</li> <li>(8) 酶标仪滤光片不正确；</li> <li>(9) 试剂/样品没有混匀；</li> <li>(10) 血清标本未完全凝固即加入，反应孔内出现纤维蛋白凝固或残留血细胞，易出现假阳性反应等。</li> </ul> | <ul style="list-style-type: none"> <li>a. 重复某一样品时，加样时间尽可能与第一次接近；</li> <li>b. 重复测定标本，操作条件、人员等应尽可能与上次保持一致，以排除这些因素造成的不一致的可能性；</li> <li>c. 样品稀释前应充分混匀；</li> <li>d. 尽可能使用同一移液器并装紧吸嘴。</li> </ul> |
| <p>3. 白板<br/>(阳性对照不显色)</p> | <ul style="list-style-type: none"> <li>(1) 漏加酶结合物；</li> <li>(2) 洗板液配制中出现问題，如量筒不干净，含酶抑制物（如叠氮钠）等；</li> <li>(3) 添加的试剂错误或者被遗漏；</li> <li>(4) 试剂过期；</li> </ul>  | <ul style="list-style-type: none"> <li>a. 请按说明书所示稀释倍数配制；</li> <li>b. 注意不要漏加；</li> <li>c. 每次加液前均应核对标签。</li> </ul>   |

|                 |   |   |
|-----------------|---|---|
| <p>4. 空白背景高</p> | <p>(1) 洗板不干净;<br/> (2) 显色液变质;<br/> (3) 试剂过期;<br/> (4) 不正确的试剂稀释液, 如加酶的浓度过高;<br/> (5) 蒸馏水受酶等污染;<br/> (6) 试剂混用;<br/> (7) 培养箱温度超过 37°C 或反应时间过长。</p> | <p>a. 浓缩洗液准确配制;<br/> b. 50 倍浓缩洗涤液如有结晶则应让结晶于室温全部溶解后再量取稀释;<br/> c. 充分洗涤, 彻底拍干;<br/> d. 加样或加酶拍板的滤纸应弃去不用, 不要反复使用, 否则易造成污染;<br/> e. 吸嘴尽可能一次性使用;<br/> f. 使用新鲜蒸馏水;<br/> g. 不同批号试剂勿混用;<br/> h. 请按说明书所示稀释倍数配制;<br/> i. 显色反应时间适当缩短。</p> |
|-----------------|---|---|



## 13、预包被 ELISA 试剂盒系列产品

### 达优®小鼠 ELISA 试剂盒

|                |  |     |
|----------------|--|-----|
| DKW12-2000-048 | Mouse IFN- $\gamma$ ELISA kit (预包被减步法)   | 48T |
| DKW12-2000-096 |  | 96T |
| DKW12-2011-048 | Mouse IL-1 $\alpha$ ELISA kit (预包被减步法)   | 48T |
| DKW12-2011-096 |  | 96T |
| DKW12-2012-048 | Mouse IL-1 $\beta$ ELISA kit (预包被减步法)    | 48T |
| DKW12-2012-096 |  | 96T |
| DKW12-2020-048 | Mouse IL-2 ELISA kit (预包被减步法)            | 48T |
| DKW12-2020-096 |  | 96T |
| DKW12-2040-048 | Mouse IL-4 ELISA kit (预包被减步法)            | 48T |
| DKW12-2040-096 |  | 96T |
| DKW12-2050-048 | Mouse IL-5 ELISA kit (预包被减步法)            | 48T |
| DKW12-2050-096 |  | 96T |
| DKW12-2060-048 | Mouse IL-6 ELISA kit (预包被减步法)            | 48T |
| DKW12-2060-096 |  | 96T |
| DKW12-2100-048 | Mouse IL-10 ELISA kit (预包被减步法)           | 48T |
| DKW12-2100-096 |  | 96T |
| DKW12-2120-048 | Mouse IL-12 p70 ELISA kit (预包被减步法)       | 48T |
| DKW12-2120-096 |  | 96T |
| DKW12-2123-048 | Mouse IL-12/IL-23 p40 ELISA kit (预包被减步法) | 48T |
| DKW12-2123-096 |  | 96T |
| DKW12-2170-048 | Mouse IL-17A ELISA kit (预包被减步法)          | 48T |
| DKW12-2170-096 |  | 96T |
| DKW12-2220-048 | Mouse IL-22 ELISA kit (预包被)              | 48T |
| DKW12-2220-096 |  | 96T |
| DKW12-2710-048 | Mouse TGF- $\beta$ 1 ELISA kit (预包被)     | 48T |
| DKW12-2710-096 |  | 96T |
| DKW12-2720-048 | Mouse TNF- $\alpha$ ELISA kit (预包被减步法)   | 48T |
| DKW12-2720-096 |  | 96T |
| DKW12-2734-048 | Mouse VEGF-A ELISA kit (预包被)             | 48T |
| DKW12-2734-096 |  | 96T |
| DKW12-2820-048 | Mouse IgE ELISA kit (预包被)                | 48T |
| DKW12-2820-096 |  | 96T |
| DKW12-2739-048 | Mouse MCP-1 ELISA kit (预包被)              | 48T |
| DKW12-2739-096 |  | 96T |

## 达优<sup>®</sup>人 ELISA 试剂盒

|                |  |     |
|----------------|--|-----|
| DKW12-1000-048 | Human IFN- $\gamma$ ELISA Kit (预包被减步法)   | 48T |
| DKW12-1000-096 |  | 96T |
| DKW12-1012-048 | Human IL-1 $\beta$ ELISA Kit (预包被减步法)    | 48T |
| DKW12-1012-096 |  | 96T |
| DKW12-1020-048 | Human IL-2 ELISA Kit (预包被减步法)            | 48T |
| DKW12-1020-096 |  | 96T |
| DKW12-1040-048 | Human IL-4 ELISA Kit (预包被)               | 48T |
| DKW12-1040-096 |  | 96T |
| DKW12-1050-048 | Human IL-5 ELISA Kit (预包被减步法)            | 48T |
| DKW12-1050-096 |  | 96T |
| DKW12-1060-048 | Human IL-6 ELISA Kit (预包被减步法)            | 48T |
| DKW12-1060-096 |  | 96T |
| DKW12-1080-048 | Human IL-8 ELISA Kit (预包被减步法)            | 48T |
| DKW12-1080-096 |  | 96T |
| DKW12-1100-048 | Human IL-10 ELISA Kit (预包被减步法)           | 48T |
| DKW12-1100-096 |  | 96T |
| DKW12-1120-048 | Human IL-12p70 ELISA Kit (预包被减步法)        | 48T |
| DKW12-1120-096 |  | 96T |
| DKW12-1170-048 | Human IL-17A ELISA Kit (预包被)             | 48T |
| DKW12-1170-096 |  | 96T |
| DKW12-1220-048 | Human IL-22 ELISA Kit (预包被减步法)           | 48T |
| DKW12-1220-096 |  | 96T |
| DKW12-1325-048 | Human sIL-2R ELISA Kit (预包被减步法)          | 48T |
| DKW12-1325-096 |  | 96T |
| DKW12-1354-048 | Human CD54/sICAM-1 ELISA Kit<br>(预包被减步法) | 48T |
| DKW12-1354-096 |  | 96T |
| DKW12-1406-048 | Human CD106/sVCAM-1 ELISA Kit<br>(预包被)   | 48T |
| DKW12-1406-096 |  | 96T |

|                |   |     |
|----------------|---|-----|
| DKW12-1530-048 | Human Adiponectin/Acrp30 ELISA Kit<br>(预包被) | 48T |
| DKW12-1530-096 |   | 96T |
| DKW12-1540-048 | Human CRP ELISA Kit (预包被)                   | 48T |
| DKW12-1540-096 |   | 96T |
| DKW12-1710-048 | Human TGF- $\beta$ 1 ELISA Kit (预包被)        | 48T |
| DKW12-1710-096 |   | 96T |
| DKW12-1720-048 | Human TNF- $\alpha$ ELISA Kit (预包被减步法)      | 48T |
| DKW12-1720-096 |   | 96T |
| DKW12-1730-048 | Human GM-CSF ELISA Kit (预包被)                | 48T |
| DKW12-1730-096 |   | 96T |
| DKW12-1731-048 | Human G-CSF ELISA Kit (预包被)                 | 48T |
| DKW12-1731-096 |   | 96T |
| DKW12-1732-048 | Human EGF ELISA Kit (预包被)                   | 48T |
| DKW12-1732-096 |   | 96T |
| DKW12-1734-048 | Human VEGF-A ELISA Kit (预包被)                | 48T |
| DKW12-1734-096 |   | 96T |
| DKW12-1739-048 | Human MCP-1 ELISA Kit (预包被)                 | 48T |
| DKW12-1739-096 |   | 96T |
| DKW12-1741-048 | Human MIP-1 $\alpha$ ELISA Kit (预包被)        | 48T |
| DKW12-1741-096 |   | 96T |
| DKW12-1760-048 | Human FGF basic ELISA Kit (预包被)             | 48T |
| DKW12-1760-096 |   | 96T |
| DKW12-1763-048 | Human $\beta$ -NGF ELISA Kit (预包被)          | 48T |
| DKW12-1763-096 |   | 96T |
| DKW12-1765-048 | Human HGF ELISA Kit (预包被)                   | 48T |
| DKW12-1765-096 |   | 96T |
| DKW12-1820-048 | Human IgE ELISA Kit (预包被)                   | 48T |
| DKW12-1820-096 |   | 96T |
| DKW12-1830-048 | Human perforin ELISA Kit (预包被)              | 48T |
| DKW12-1830-096 |   | 96T |

## 达优®大鼠 ELISA 试剂盒

|                |                                      |     |
|----------------|--------------------------------------|-----|
| DKW12-3000-048 | Rat IFN- $\gamma$ ELISA kit (预包被减步法) | 48T |
| DKW12-3000-096 |                                      | 96T |
| DKW12-3012-048 | Rat IL-1 $\beta$ ELISA kit (预包被)     | 48T |
| DKW12-3012-096 |                                      | 96T |
| DKW12-3020-048 | Rat IL-2 ELISA kit (预包被减步法)          | 48T |
| DKW12-3020-096 |                                      | 96T |
| DKW12-3040-048 | Rat IL-4 ELISA kit (预包被)             | 48T |
| DKW12-3040-096 |                                      | 96T |
| DKW12-3060-048 | Rat IL-6 ELISA kit (预包被)             | 48T |
| DKW12-3060-096 |                                      | 96T |
| DKW12-3100-048 | Rat IL-10 ELISA kit (预包被减步法)         | 48T |
| DKW12-3100-096 |                                      | 96T |
| DKW12-3170-048 | Rat IL-17A ELISA kit (预包被)           | 48T |
| DKW12-3170-096 |                                      | 96T |
| DKW12-3710-048 | Rat TGF- $\beta$ 1 ELISA kit (预包被)   | 48T |
| DKW12-3710-096 |                                      | 96T |
| DKW12-3720-048 | Rat TNF- $\alpha$ ELISA Kit (预包被减步法) | 48T |
| DKW12-3720-096 |                                      | 96T |

## ELISA 辅助试剂

|            |                                  |       |
|------------|----------------------------------|-------|
| DKW12-T010 | TMB (ready-to-use, 即用型), 1 plate | 10 mL |
| DKW-F1     | ELISA 辅助试剂盒                      | 96T   |

深圳市达科为生物工程有限公司  
**Dakewe Bioengineering Co., LTD**  
 (130101)