کیت اندازه گیری IgG موشی۴۸ تستی

(CN: KPG-MIgG)

IgG نوعی آنتی بادی می باشد که زنجیره سنگین آن از کلاس گاما است. این آنتی بادی مهمترین عامل سیستم ایمنی هومورال بر علیه میکروب ها به شمار می آید و مهمترین آنتی بادی در پاسخ ثانویه می باشد. از طرفی نقش مهم این آنتی بادی در ایجاد ایمنی جنین از مادر به خوبی شناخته شده است. این آنتی بادی در ایجاد سلول کشی با واسطه آنتی بادی (ADCC) توسط سلول هایی همچون NK cell ها نیز شرکت می کند. بنابراین بررسی میزان سرمی و یا بافتی توتال IgG از اهمیت ویژه ای در بررسی بیماری ها و همچنین اثر بخشی واکسن ها برخوردار است. کیت حاضر با استفاده از آنتی بادی های مونوکلونال ضد IgG توتال موشی طراحی و تولید شده است، بنابراین در اندازه گیری موارد مشابه حیوانی و انسانی کاربرد ندارد.

محتویات کیت:

محتوی	کاتالوگ نامبر	حجم
ILgG antibody pre-coated plates	KPG- IgG P	۴۸ چاهک
Standards 1-4	KPG- IgG NS1-4	200 میکرو لیتر
HRP-Avidin	KPG-HA	۲/۵ میلی لیتر
HRP	KPG-HAA	۱۱ میکرولیتر
Substrate	KPG-SU	۲/۵میلی لیتر
Stopping	KPG-ST	۳/۵ میلی لیتر
10X washing buffer	KPG-WB	۲۰ میلی لیتر
Detection Ab	KPG- IgG D	۲/۵میلی لیتر

مواد مورد نیاز که در کیت وجود ندارد

دستگاه الایزا ریدر	آب مقطر استریل دوبار تقطیر
انواع سمپلر	دستگاه میکروفیوژ

استاندارد:

استانداردهای موجود موجود در کیت آماده مصرف و به شرح جدول ذیل میباشد:

استاندارد	CN	ng/ml	OD
استاندارد ۴	KPG- **MIgG** S4	۲۰۰ نانوگرم بر میلی لیتر	2.3 -1.9
استاندارد ۳	KPG- **MIgG** S3	۱۰۰ نانوگرم بر میلی لیتر	1.4-0.8
استاندارد ۲	KPG- **MIIgG** S2	۵۰ نانوگرم بر میلی لیتر	0.6-0.4
استاندارد ۱	KPG- **MIIgG** S1	۵ نانوگرم بر میلی لیتر	0.1-0.2
Blank	-	۰ نانوگرم بر میلی لیتر	0.08-0.05

حساسیت کیت حاضر به میزان ۲ نانوگرم بر میلی لیتر

دقت کیت inter assay< %8-10, Intra assay< %3-4

نحوه آماده سازی

نمونه: در صورت استفاده از سرم، نمونه بایستی رقیق شود زیرا میزان IgG توتال در نمونه سرم بس
باشد. پیشنهاد ما رقیق سازی به میزان ۱۰۰۰ برابر است با این وجود در برخی موارد رقیق سازی ت
برابر نیز ممکن است نیاز شود. به این منظور پیشنهاد می شود که ابتدا تعیین رقت نمایید و در انتها
کامل گذاشته شود. به طور مثال پیشنهاد می شود ابتدا رقت های ۱۰۰، ۱۰۰۰ و ۱۰/۰۰۰ به صور
(Duplicate) مورد بررسی قرار گیرد. در صورت استفاده از بافت، ۲۵ میلی گرم از بافت مورد
۵۰۰ میکرولیتر از بافر ریپا هموژن کرده و سپس ۱۰۰ برابر رقیق کرده و در چاهک های الایزا تا
سازی به نسبت یک دوم انجام دهید. رقت مناسب بایستی دارای حداقل OD: 1/5 باشد. (نکته مه
هر غلظتی که با استفاده از نمودار استاندارد به دست آمد، بایستی در رقت مورد نظر ضرب شود).
باشید که برای رقیق سازی نمونه ها حتما از محلول رقیق کننده داخل کیت استفاده نمایید. استا
موجود در کیت نیاز به رقیق سازی ندارند

Washing Buffer

برای آماده سازی محلول شستشو می بایست

این محلول را با آب مقطر ۱۰ برابر رقیق کنید.

HRP-Avidin

برای آماده سازی محلول HRP-Avidin ابتدا ویال HRP را با استفاده دستگاه میکروفیوژ اسپین کرده سپس به میزان ۵۰۰ میکرولیتر از ویال HRP-Avidin به ویال HRP اضافه کرده و پس از ورتکس تمامی محتوی آن را به ویال HRP-Avidin اضافه کنید و به مدت ۳ دقیقه با دست تکان دهید تا به خوبی مخلوط گردد.

دقت کنید محتوی آماده شده فقط به مدت یک هفته پایداری دارد.

نمونه:

در صورت استفاده از سرم، نمونه مستقیم بدون رقت سازی مورد استفاده قرار گیرد.

در صـورت اسـتفاده از بافت، ۲۵ میلی گرم از بافت مورد نظر از نمونه ای که احتمال بیشترین میزان سایتوکین داده می شود را برداشته در ۵۰۰ میکرولیتر از بافر ریپا هموژن کرده و سپس تا ۸ بار رقت سازی به نسبت یک دوم انجام دهید. رقت منا سب بایـ ستی دارای حداکثر OD: 1/5 با شد. نمونه بافت باید در بافر ریپا که حاوی آنتی پروتئاز است هموزنایز شود.

نحوه کار با کیت برای اندازه گیری IgG

۱- پلیت را از بسته مورد نظر خارج کرده و در محیطی خشک به دمای اتاق برسانید. به چاهک اول تا چهارم به میزان ۵۰ میکرولیتر از استاندارد های شماره ٤ تا ۱ اضافه و چاهک پنجم را برای بلانک در نظر گرفته و تمامی مراحل بجز مرحله ٤ و ٦ را برای بلانک اجرا کنید.

۲- به میزان ۵۰ میکرولیتر به باقی چاهک ها نمونه مورد نظر را اضافه کنید و به مدت ۵۰ دقیقه بر روی شیکر سرعت ۲۰۰ RPM در دمای اتاق انکوبه کنید .(استفاده از چسب پهن بر روی پلیت جهت جلوگیری از تبخیر الزامی است)

۳- بعد از انکوباسیون مناسب، با استفاده از محلول شستشو پلیت ها را ۳ مرتبه شستشو دهید(بعد از اضافه کردن محلول شستشو، پلیت ها را به مدت تقریبی ۱ دقیقه دردمای اتاق انکوبه کنید و سپس تخلیه نمایید)

٤- به میزان ۵۰ میکرولیتر از آنتی بادی کونژوگه(Detection ab) به تمامی چاهک ها (به جز بلانک)اضافه کنید و به مدت ۵۰ دقیقه بر روی شیکر سرعت ۲۰۰ RPM در دمای اتاق انکوبه کنید.

۵- بعد از انکوباسیون مناسب، با استفاده از محلول شستشو پلیت ها را ۳ مرتبه شستشو دهید.

٦- به میزان ۵۰ میکرولیتر از محلول HRP-Avidin به تمامی چاهک ها (به جز بلانک) اضافه کنید و به مدت۳۰ دقیقه بر روی شیکر (حداقل در دور RPM ۲۰۰) انکوبه کنید.

۷- بعد از انکوباسیون مناسب، با استفاده از محلول شستشو پلیت ها را ۵ مرتبه شستشو دهید.

۸- به میزان ۵۰ میکرولیتر از سوبسترا به تمامی چاهک ها اضافه کنید و به مدت ۱۵ دقیقه انکوبه کنید. دقت نمایید که زمان ۱۵ دقیقه برای انکوباسیون کافی است اما درصورتی که میزان رنگ تولیدی زیاد باشد، زمان را تا ۱۰ دقیقه می توان کاهش داد.

۹- به میزان ۲۵ میکرولیتر از محلول متوقف کننده به تمامی چاهک ها اضافه کنید و میزان جذب نمونه ها در دستگاه الیزا ریدر در طول موج ٤۵۰ نانومتر مورد اندازه گیری قرار گیرد.

مشکلات ایجادشده و راه حل آن ها

مشکل ایجاد شده	علت	برطرف کردن مشکل
رنگ زمینه ای زیاد ایجاد می شود	عدم شستشوی کامل و کافی	میزان محلول شستشو را افزایش دهید. زمان انکوباسیون محلول شستشو را افزایش دهید.
	آلودگی متقاطع از نمونه های دیگر و استاندارد	تست را تکرار کنید و در زمان اضافه کرن نمونه ها دقت کنید.
	مقادیر مناسبی از محلول ها اضافه نشده است	در مواردی که تعداد تست کم باشد در برداشتن محلول **HRP** دقت زیادی کنید زیرا غوطه ور کردن سرسمپلر در محلول منجر به افزایش برداشت این محلول شده و منجر به افزایش رنگ زمینه ای می شود. در زمان برداشت **HRP** حتما از لبه بالایی آن برداشت کنید.
	سوبسترا رنگی است	سوبسترا در بدو استفاده بی رنگ باشد.
استاندارد فاقد رنگ است	استاندارد مشکل پیدا کرده است	درصورتیکه نمونه ها دارای OD های متفاوت هستند اما استاندارد فاقد رنگ مناسب باشد نشان دهدنه این است که استاندارد مشکل دارد و دیگر اجزای کیت درست عمل کرده است. دلیل نگهداری طولانی مدت استاندارد خارج از دمای ۲۰-درجه سانتیگراد و فریز و باز کردن مکرر آن می باشد.
	آماده سازی **HRP-Avidin** بیش از ۷ روز قبل.	**HRP-Avidin** را به صورت تازه آماده سازی کنید.
	وجود ممانعت کننده **HRP** در سر سمپلر	درصورتیکه تمام نمونه ها و استاندارد هیچگونه رنگی تولید نکنند، احتمالا در سر سمپلر و یا آب مورد استفاده برای محلول شستشو دارای ممانعت کنده برای **HRP** هستید.

ایمنی حین استفاده از کیت

محلول های مورد استفاده در کیت دارای خواص اکسیدانی و اسیدی می باشند. از تماس مستقیم با پوست و چشم به شدت اجتناب کنید.

درصورت تماس با بافت های مورد اشاره با میزان فراوان آب شستشو دهید و به نزدیکترین محل درمانی مراجعه کنید.

توضیحی در خصوص شرکت کارمانیا پارس ژن

شرکت کارمانیا پارس ژن از سال ۱۳۹۵ تاسیس گردید. در ابتدای امر با تولید کیت الایزا برای اندازه گیری TNF-alpha انسانی شروع به کار کرد. در ادامه با تلاش زیاد و خستگی ناپذیر به تولید کیت های بیشتر در زمینه سایتوکین ها، اکسیدان ها و آنتی اکسیدان ها روند رو به پیشرفت خود را تکمیل کرد. اکنون شرکت کارمانیا پارس ژن با ورود به تولید اقلامی از جمله ستون های استخراج DNA/RNA و موارد مصرفی مانند میکروتیوب های دستگاه های Real-Time PCR و سر سمپلر های فیلتر دار، قسمت اعظمی از نیاز آزمایشگاه های داخل کشور را تامین می کند. مؤسسین این شرکت از برجسته ترین اساتید دانشگاه هستند که با اتصال علم به صنعت و با همکاری با مهندسین در رشته های مختلف در راستای بی نیاز کردن کشور عزیزمان از کالاهای وارداتی گامی بزرگ برای حفظ عزت مردم عزیز کشورمان برداشته اند. همکاران ما و همچنین شما محققین گرامی بزرگترین شاخص قدرت ما هستید.

آدرس کارخانه

رفسنجان، ۲۰ کیلومتر جاده رفسنجان به کرمان

ناحیه غذا و دارو منطقه ویژه اقتصادی رفسنجان

شماره تماس ثابت :۵-۳۴۲۰۸۰۲۴-۰۳۴

شماره همراه ۰۹۱۳۲۹۲۶۱۱۳

۰۹۱۳۵۰۲۵۹۸۳

ایمیل : Karmaniaparsgene@gmail.com

سایر کیت های الایزا تولید شده شرکت کارمانیا پارس ژن

Human	Mouse	Rat
IL-1β	IL-1β	TNF-α
IL-2	IL-2	IL-1β
IL-4	IL-4	IL-6
IL-6	IL-6	IL-10
IL-8	IL-10	IL-17A
IL-10	IL-13	
IL-12	IL-33	
IL-13	IL-18	
IL-18	TNF-α	
IL-23	TGF- β	
IL-29	CCL3	
IL-17A	IFN-γ	
TGF-β	Total IgG	
VEGF	IgE	
TNF-α		
IFN-γ		
CCL2 (MCP-1)		
CCL3 (MIP-1-alpha)		
CXCL10 (IP-10)		
CXCL12 (SDF-1)		
CCL21		

لیست کیت های الایزا در حال به روز شدن می باشد.