



کیت اندازه گیری TNF-α موشی 48 تستی



(CN: KPG-MTNF-a)

**توضیحی کوتاه درخصوص TNF-α**

TNF-α سایتوکینی التهابی است که عمدتاً توسط سلول های ایمنی ذاتی مانند ماکروفاژها تولید می شود. این سایتوکین، دارای خواص التهابی فراوانی است و نقش آن بر علیه عفونت های باکتریال، ویرال و قارچی به خوبی مشخص شده است. از طرفی این سایتوکین در ایجاد بیماری های با واسطه ایمنی سلولار نقش زیادی دارد. این سایتوکین عامل اصلی ایجاد بیماری شوک عفونی می باشد. بنابراین این سایتوکین به عنوان یک شاخص التهابی کاربرد فراوانی در مطالعات آزمایشگاهی برای بررسی وضعیت یک بیماری و یا اثرات التهابی و یا ضد التهابی یک دارو دارا می باشد. کیت حاضر با استفاده از آنتی بادی های مونوکلونال ضد TNF-α موشی طراحی و تولید شده است، بنابراین در اندازه گیری موارد مشابه حیوانی و انسانی کاربرد ندارد.

**محتویات کیت:**

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

مواد مورد نیاز که در کیت وجود ندارد

دستگاه الیزا ریدر	آب مقطر استریل دوبار تقطیر
انواع سمپلر	دستگاه میکروویوژ - دستگاه ورتکس

**استاندارد:**

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

استاندارد	CN	Pg/ml	OD
استاندارد ۴	KPG- MTNF-A S4	۲۰۰ پیکوگرم بر میلی لیتر	2.4 -1.8
استاندارد ۳	KPG- MTNF-A S3	۱۰۰ پیکوگرم بر میلی لیتر	1.1-0.7
استاندارد ۲	KPG- MTNF-A S2	۵۰ پیکوگرم بر میلی لیتر	0.5-0.4
استاندارد ۱	KPG- MTNF-A S1	۵ پیکوگرم بر میلی لیتر	0.1-0.2
Blank	-	۰ پیکوگرم بر میلی لیتر	0.08-0.05

حساسیت کیت حاضر به میزان ۲ پیکوگرم بر میلی لیتر  
دقت کیت 3-4% < Intra assay, 8-10% < inter assay

**نحوه آماده سازی محلول ها:**

**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 میکروویوژ 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.

**محتوی آماده شده فقط به مدت یک هفته پایداری دارد.**

**نکته : قبل از شروع تست از بی رنگ بودن Substrate اطمینان حاصل کنید**

**نمونه:**

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

در صورت استفاده 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 رپیا هموزن کرده و سپس تا ۸ بار رقت سازی به نسبت یک دوم انجام دهید. رقت مناسب بایستی دارای حداکثر OD: 1/5 باشد. نمونه بافت باید در بافر رپیا که حاوی آنتی پروتئاز است هموزنایز شود.

**نحوه کار با کیت برای اندازه گیری MTNF-a**

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 ۴ تا ۱ اضافه و چاهک پنجم را برای بلانک در نظر گرفته و تمامی مراحل بجز مرحله ۴ و ۶ 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 در دمای اتاق انکوبه کنید و سپس تخلیه نمایید)

۴- 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.

۶- به میزان ۵۰ میکرولیتر از محلول HRP-Avidin به تمامی چاهک ها (به جز بلانک) اضافه کنید و به مدت ۳۰ 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 ۱۰ دقیقه انکوبه کنید. دقت نمایید که زمان ۱۰ دقیقه برای انکوباسیون کافی است اما در صورتی که میزان رنگ تولیدی زیاد باشد، زمان را 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 ۴۵۰ نانومتر مورد اندازه گیری قرار گیرد.

## مشکلات ایجاد شده 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.
استاندارد و فاقد رنگ است	سوبسترا رنگی است	سوبسترا در بدو استفاده بی رنگ باشد.
	استاندارد مشکل پیدا کرده است	در صورتیکه نمونه ها دارای OD های متفاوت هستند اما استاندارد فاقد رنگ مناسب باشد نشان دهنده 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	در صورتیکه تمام نمونه ها و استاندارد هیچگونه رنگی تولید نکنند، احتمالاً در سر سمپلر و یا آب مورد استفاده برای محلول شستشو دارای ممانعت کننده برای HRP هستند.	

## 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. در صورت 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. مؤسسين این شرکت از برجسته ترین اساتید دانشگاه هستند که با اتصال علم به صنعت و با همکاری با مهندسين 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: ۰۳۴-۳۴۲۰۸۰۲۴-۵

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.