



کیت اندازه گیری IL-13 Mouse

CN: KPG-MIL-13

Lot N:



توضیحی کوتاه درخصوص IL-13

سایتوکین IL-13 یکی از مهم‌ترین سایتوکین‌های ترشح شده توسط لنفوسیت‌های Th2 می‌باشد. این سایتوکین برای تعویض کلاس آنتی‌بادی به IgE اهمیت ویژه‌ای دارد و در ایجاد بیماری‌های آلرژیک نقش مهمی ایفا می‌کند. یکی دیگر از اعمال IL-13 ایجاد عوارض بیماری‌آسم می‌باشد. کیت حاضر با استفاده از آنتی‌بادی‌های مونوکلونال ضد IL-13 موشی طراحی و تولید شده است، بنابراین در اندازه‌گیری موارد مشابه حیوانی کاربرد ندارد

محتوی	کاتالوگ نامبر	۹۶ تستی	۴۸ تستی
IL13 plates	KPG- MIL13P	۹۶ چاهک	۴۸ چاهک
Standard	KPG- MIL13S	۱۰۰ میکرو لیتر	۱۰۰ میکرو لیتر
HRP-Avidin	KPG-HA	۳ میلی لیتر	۲/۵ میلی لیتر
HRP	KPG-HAA	۵۰ میکرو لیتر	۵۰ میکرو لیتر
Substrate	KPG-SU	۵/۵ میلی لیتر	۲/۵ میلی لیتر
Stopping	KPG-ST	۳/۵ میلی لیتر	۳/۵ میلی لیتر
10X washing buffer	KPG-WB	۴۰ میلی لیتر	۲۰ میلی لیتر
Detection Ab	KPG- MIL13D	۳ میلی لیتر	۲/۵ میلی لیتر
Elution buffer	KPG-EBE	۵ میلی لیتر	۵ میلی لیتر

مواد مورد نیاز:

میکروتیوب	آب مقطر استریل دوبار تقطیر
انواع سمپلر و سرسمپلر	دستگاه میکرو فیوژ
الایزا ریدر (طول موج ۴۵۰ نانومتر)	

نحوه آماده سازی استاندارد:

استاندارد در کیت نیاز به آماده سازی دارد. برای ساخت استاندارد با غلظت ۳۰۰ پیکوگرم بر میلی لیتر (استاندارد شماره ۴) میزان ۱۵ میکرو لیتر از استاندارد را در ۱ سی سی Elution buffer مخلوط کنید (در ادامه برای ساخت غلظت‌های ۱۰۰، ۳۳ و ۱۱ (استاندارد‌های شماره ۳، ۲ و ۱) سه میکروتیوب آماده کرده و ضمن شماره گذاری، به میزان ۲۰۰ میکرو لیتر از Elution buffer به تمام میکروتیوب‌ها اضافه کنید. در ادامه به میزان ۱۰۰ میکرو لیتر از استاندارد شماره ۴ (آماده شده در مرحله قبل) را به میکروتیوب استاندارد شماره ۳ اضافه کنید و بعد از مخلوط کردن کامل، ۱۰۰ میکرو لیتر از استاندارد شماره ۳ به میکروتیوب استاندارد شماره ۲، و بعد از مخلوط کامل، ۱۰۰ میکرو لیتر از استاندارد شماره ۲ به میکروتیوب استاندارد شماره ۱ اضافه کنید. در اینصورت استاندارد‌های شماره ۴ (۳۰۰ پیکوگرم بر میلی لیتر)، ۳ (۱۰۰ پیکوگرم بر میلی لیتر)، ۲ (۳۳ پیکوگرم بر میلی لیتر) و ۱ (۱ پیکوگرم بر میلی لیتر) آماده می‌شوند. دقت بفرمایید این عمل حتما در میکروتیوب و خارج از چاهک‌های الایزا انجام شود زیرا در دقت و صحت تست اثرگذار می‌باشد. OD های داخل جدول از تست کنترل کیفی به دست آمده در این کیت می‌باشد.

استاندارد	Pg/ml	OD -450nm
A1 Blank	۰ پیکوگرم بر میلی لیتر	0.3-0.09
B1 استاندارد ۱	۱۱ پیکوگرم بر میلی لیتر	0.7-0.3
C1 استاندارد ۲	۳۳ پیکوگرم بر میلی لیتر	1-0.7
D1 استاندارد ۳	۱۰۰ پیکوگرم بر میلی لیتر	1.8-1.2
E1 استاندارد ۴	۳۰۰ پیکوگرم بر میلی لیتر	2.6-2.1

حساسیت کیت به میزان ۲ پیکوگرم بر میلی لیتر می‌باشد.

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

آماده سازی محلول‌ها:

Washing Buffer

برای آماده سازی محلول شستشو 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 میکرو فیوژ اسپین کرده سپس برای کیت ۹۶ تستی به میزان ۳۷ میکرو لیتر از محلول HRP را با ۲/۵ سی سی از محلول HRP-Avidin مخلوط کنید.

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

قبل از شروع کار با کیت، از بی رنگ بودن محلول 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 می‌شود را برداشته در ۵۰۰ میکرو لیتر از بافر رپا 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 رپا که حاوی آنتی پروتئاز است هموزنایز شود. (بافر رپا درکیت موجود نمی‌باشد جهت خرید با ما در ارتباط باشید)

10 Min مدت زمان RPM 10.000 سرعت سانتریفیوژ

نحوه کار با کیت

۱- پلیت را از بسته مورد نظر خارج کرده و در محیطی خشک به دمای اتاق برسانید. طبق دستور عمل آماده سازی استاندارد‌ها، استاندارد‌ها را آماده و به میزان ۵۰ میکرو لیتر به چاهک‌ها اضافه کنید و تمامی مراحل بجز مرحله ۴ را برای بلانک اجرا کنید.

۲- به میزان ۵۰ میکرو لیتر به باقی چاهک‌ها نمونه مورد نظر را اضافه کنید و به مدت ۴۰ دقیقه بر روی شیکر سرعت ۱۰۰ RPM در دمای اتاق انکوبه کنید (استفاده از چسب پهن بر روی پلیت جهت جلوگیری از تخییر الزامی است).

۳- بعد از انکوباسیون مناسب، با استفاده از محلول شستشو پلیت‌ها را ۳ مرتبه به میزان ۲۵۰ میکرو لیتر شستشو دهید (بعد از اضافه کردن محلول شستشو، پلیت‌ها را به مدت تقریبی ۱ دقیقه در دمای اتاق انکوبه کنید و سپس تخلیه نمایید).

۴- به میزان ۲۵ میکرو لیتر از آنتی‌بادی کونژوگه (Detection ab) و ۲۵ میکرو لیتر از محلول HRP-Avidin (آماده شده طبق دستورالعمل کیت) به تمامی چاهک‌ها (به جز بلانک A1) اضافه کنید و به مدت ۳۰ دقیقه بر روی شیکر سرعت ۱۰۰ RPM در دمای اتاق انکوبه کنید. دقت کنید می‌توانید مقادیر مناسب از آنتی‌بادی کونژوگه (Detection ab) و محلول HRP-Avidin (آماده شده طبق دستورالعمل کیت) را با هم مخلوط و از مخلوط به دست آمده به میزان ۵۰ میکرو لیتر به چاهک‌ها اضافه کنید.

۵- بعد از انکوباسیون مناسب، با استفاده از محلول شستشو پلیت‌ها را ۵ مرتبه به میزان ۲۵۰ میکرو لیتر شستشو دهید. دهید (بعد از اضافه کردن محلول شستشو، پلیت‌ها را به مدت تقریبی ۱ دقیقه در دمای اتاق انکوبه کنید و سپس تخلیه نمایید).

۶- به میزان ۵۰ میکرو لیتر از سوبسترا به تمامی چاهک‌ها اضافه کنید و به مدت ۱۰ دقیقه در دمای اتاق انکوبه کنید. دقت نمایید که زمان ۱۰ دقیقه برای انکوباسیون کافی است اما در صورتی که میزان رنگ تولیدی زیاد باشد، زمان را می‌توان کاهش داد و بالعکس در صورتیکه میزان رنگ کم باشد تا ۱۵ دقیقه می‌توان زمان را افزایش داد.

۷- به میزان ۲۵ میکرو لیتر از محلول متوقف کننده به تمامی چاهک‌ها اضافه کنید و میزان جذب نمونه‌ها در دستگاه الایزا ریدر در طول موج ۴۵۰ نانومتر اندازه گیری کنید.

مشکلات ایجادشده و راه حل آن ها

مشکل	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 فاقد رنگ است	سوبسترا رنگی است	سوبسترا در بدو استفاده بی رنگ باشد.
	استاندارد مشکل پیدا کرده است	درصورتیکه 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	درصورتیکه تمام نمونه ها و استاندارد هیچگونه رنگی تولید نکنند، احتمالا 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. 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 تا سیس 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 سابتوکین 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، ق سمت اعظمی از نیاز آزمای شگاه 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 مهند سین در رشته های مختلف در را ستای 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، کیلومتر ۲۰ جاده رفسنجان به کرمان
ناحیه غذا و دارو منطقه ویژه اقتصادی رفسنجان

شماره همراه -واتساپ- بله- ایتم-تلگرام

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.