

کیت تشخیصی میزان سایتوکین IL-10 رت (صرفاً برای بررسی در تحقیقات)

محتویات کیت: ۱. پلیت کوت شده با آنتی بادی ضد IL-10 رت (CN: KPG-RI10P)، ۲. استانداردهای ۱-۴ (CN: KPG-RI10S1-4)، ۳. آنتی بادی کونژوگه (CN: KPG-RI10D)، ۴. HRP-Avidin (CN: KPG-HA)، ۵. سوبسترا (CN: KPG-SU)، ۶. محلول متوقف کننده (CN: KPG-ST)، ۷. محلول شستشو 10X (CN: KPG-WB)

۱. **مواد مورد نیاز که در کیت وجود ندارد:** ۱. دستگاه الیزا ریدر، ۲. آب مقطر استریل دوبار تقطیر، ۳. انواع سمبلر و سرسمبلر

۲. **نمونه مورد استفاده:** آنتی بادی های مورد استفاده شده در این کیت قادر به شناسایی IL-10 در نمونه سرم، پلاسما، مایع مغزی-نخاعی و سوپرناتانت کشت سلولی نمونه رت می باشند.

توضیحی کوتاه در خصوص IL-10:

IL-10 سایتوکینی ضد التهابی است که توسط تعداد زیادی از سلول های ایمنی از جمله لنفوسیت های T تنظیم کننده و ماکروفاژها تولید می شود. این سایتوکین، دارای خواص ضد التهابی فراوانی است و بر روی تعداد یادی از سلول های ایمنی دارای گیرنده می باشد. از این رو قادر به تنظیم و سرکوب پاسخ رنج وسیعی از فعالیت های سیستم ایمنی می باشد. IL-10 نقش مهمی در ایجاد هوئوستاز به دنبال عفونتهای میکروبی و همچنین جلوگیری از ایجاد بیماری های خود ایمنی می باشد. بنابراین این سایتوکین به عنوان یک شاخص ضد 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 IL-10 رت طراحی و تولید شده است، بنابراین در اندازه گیری موارد مشابه حیوانی و انسانی کاربرد ندارد.

نحوه آماده سازی استاندارد:

➤ استانداردهای موجود در این کیت آماده مصرف و به غلظت های ۲۰۰ پیکوگرم بر میلی لیتر برای استاندارد شماره ۴، ۱۰۰ پیکوگرم بر میلی لیتر برای استاندارد شماره ۳، ۵۰ پیکوگرم بر میلی لیتر برای استاندارد شماره ۲ و ۰ پیکوگرم بر میلی لیتر برای استاندارد شماره ۱ می باشند.

حساسیت کیت حاضر به میزان ۵ پیکوگرم بر میلی لیتر و دقت آن $3\% < \text{Intra assay}$, $9\% < \text{Inter assay}$ می باشد.

نحوه کار با کیت برای اندازه گیری IL-10 رت

برای اندازه گیری IL-10 در نمونه مورد بررسی موارد زیر را به ترتیب و بدون تغییر انجام دهید:

۱. پلیت را از بسته مورد نظر خارج کرده و در محیطی خشک به دمای اتاق برسانید.
۲. به چاهک A1 تا D1 به ترتیب به میزان ۵۰ میکرولیتر از استاندارد های شماره ۴ تا ۱ اضافه کنید و به باقی چاهک ها به میزان ۵۰ میکرولیتر نمونه مورد نظر را اضافه کنید و برای جلوگیری از تبخیر سطح پلیت ها را بپوشانید و در ادامه به مدت ۱ ساعت بر روی شیکر (۲۰۰ RPM) انکوبه کنید.
۳. بعد از انکوباسیون مناسب، با استفاده از محلول شستشو پلیت ها را ۳ مرتبه شستشو دهید. دقت داشته باشید که محلول شستشو در غلظت 10X تهیه شده است. بنابراین قبل از شستشو، محلول شستشو را با آب مقطر دوبار تقطیر ۱۰ برابر رقیق نمایید. دقت داشته باشید که بعد از اضافه کردن محلول شستشو، پلیت ها را به مدت تقریبی ۱ دقیقه دردمای اتاق انکوبه کنید و سپس تخلیه نمایید.
۴. به میزان ۵۰ میکرولیتر از آنتی بادی کونژوگه به تمامی حفره ها اضافه کنید و برای جلوگیری از تبخیر سطح پلیت ها را بپوشانید و در ادامه به مدت ۱ ساعت بر روی شیکر (۲۰۰ RPM) انکوبه کنید.
۵. بعد از انکوباسیون مناسب، با استفاده از محلول شستشو پلیت ها را ۳ مرتبه شستشو دهید. دقت داشته باشید که بعد از اضافه کردن محلول شستشو، پلیت ها را به مدت تقریبی ۱ دقیقه دردمای اتاق انکوبه کنید و سپس تخلیه نمایید.
۶. به میزان ۵۰ میکرولیتر از محلول HRP-Avidin به تمامی حفره ها اضافه کنید و برای جلوگیری از تبخیر سطح پلیت ها را بپوشانید و در ادامه به مدت نیم ساعت بر روی شیکر (۲۰۰ RPM) انکوبه کنید.



<http://kpgene.ir>



09132926113



@karmaniaparsgene1



info@kpgene.ir



karmaniaparsgene

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

۸. به میزان ۵۰ میکرولیتر از سوپسترا به تمامی حفره ها اضافه کنید و به مدت ۱۵ دقیقه بر روی شیکر انکوبه کنید.

۹. به میزان ۲۵ میکرولیتر از محلول متوقف کننده به تمامی حفره ها اضافه کنید و میزان جذب نمونه ها در دستگاه الیزا ریدر در طول موج ۴۵۰ نانومتر مورد اندازه گیری قرار گیرد.

اشکالات احتمالی در روند کار با کیت و نحوه برطرف کردن آن ها

خطاها به چند دلیل ممکن است ایجاد شوند. اولین و مهمترین دلیل آن شستشو نامناسب حفره ها است. در صورت شستشو نامناسب و باقی ماندن مواد از مرحله قبل، مانند نمونه، از اتصال صحیح مواد مرحله بعدی به پلیت، مانند آنتی بادی کونژوگه، جلوگیری می شود و این آنتی بادی ها در مرحله شستشو بعدی از حفره ها حذف می شوند. شستشو نامناسب حتی ممکن است منجر به این شود که استاندارد ها هیچگونه تفاوت جذبی نداشته باشند و همگی به یک میزان رنگ تولید کنند. دومین دلیل احتمالی، آماده سازی نامناسب استانداردها و یا استفاده از استاندارد که از آماده سازی آن زمانی بیش از ۲ ساعت گذشته باشد. سایتوکین ها مولکول هایی ناپایدار می باشند و برای اندازه گیری آن ها بایستی استاندارد به صورت تازه و در زمان نیاز آماده شود. استفاده از سمپلهای غیر استاندارد به دلیل دقت کم نیز می تواند دلیلی دیگر بر این ادعا باشد. استفاده از محلول هایی غیر از محلول های تعویبه شده در کیت (مانند استفاده از محلول شستشو از کیت های دیگر) به شدت بر میزان دقت و حساسیت کیت تاثیر گذار می باشد. بنابراین از به کار بردن محلول هایی غیر از محلول های شرکت کارمانیا پارس ژن خودداری فرمایید. در برخی مواقع میزان OD استاندارد صفر ممکن است بیش از عدد ۰/۰۹ باشد. دلیل احتمالی این امر عدم شستشوی مناسب باشد. برای رفع این مشکل می توان پایین ترین OD مربوط به نمونه ها را به عنوان صفر برای دستگاه تعریف کرد تا تمامی نمونه ها در رنج قابل اندازه گیری قرار بگیرند.



The logo for Karmania Pars Gene (KPG) features the letters 'KPG' in a large, bold, blue font. Below the letters, the full name 'Karmania Pars Gene' is written in a smaller, blue font. To the left of the letters, there is a stylized blue icon of a hand holding a test tube, with a circular element above it containing a DNA double helix structure.



<http://kpgene.ir>



09132926113



@karmaniaparsgene1



info@kpgene.ir



karmaniaparsgene