نام فراورده : **Poly-HRP detection system (Mouse/Rabbit)-BioVision™ plus**

SB-049951 ۵۰۰ تستی
SB-049952 ۲۵۰ تستی
SB-049953 ۱۰۰ تستی

مشخصات فرآورده:

میزبان: بز

ایمونوژن: ایمونوگلوبولین

واکنشگری: موش و خرگوش

شکل: مایع

فرمولاسیون: بافر تریس pH 7.2 حاوی ۰/۲٪ آلبومین سرم گاو و نگهدارنده

شرایط نگهداری: محتویات کیت باید در ۴ °C نگهداری شود.

پایداری: ۹ ماه پس از تولید

کاربرد: ایمونوهیستوشیمی-ایمونوسیتوشیمی

-توصیف:

سیستم شناساگر Poly-HRP (BioVision™) به عنوان لایه دوم رنگ آمیزی های ایمونوهیستوشیمی-ایمونوسیتوشیمی طراحی و ساخته شده است. تکنولوژی ساخت این محصول صد در صد ایرانی بوده و برای اولین بار در ایران بر اساس آخرین فناوری روز دنیا طراحی شده است. این محصول در آزمایشگاه های شرکت دانش بنیان زیست فناوران سینا (Sinabiotech) زیر نظر متخصصین شیمی و ایمونولوژی ساخته شده و عملکرد منحصر بفرد آن در مقایسه با محصولات مشابه امریکایی و اروپایی توسط آزمایشگاه های پاتولوژی معتبر سطح کشور بررسی و تایید شده است. فناوری ساخت این محصول در مرکز مالکیت معنوی ثبت اختراع شده است. این سیستم یک سیستم مبتنی بر HRP و آنتی بادی ثانویه متصل به سیستم پلیمری است و ضمن کاهش سیگنال مزاحم (Background) حساسیت شناسایی آنتی ژن به روش ایمونوهیستوشیمی-ایمونوسیتوشیمی را نسبت به روش های غیرمستقیم رایج چندین برابر افزایش می دهد. این روش رنگ آمیزی همچنین مراحل و مدت زمان رنگ آمیزی ایمونوهیستوشیمی-ایمونوسیتوشیمی را بسیار کوتاه کرده؛ به طوری که کل مراحل رنگ آمیزی از مرحله اضافه کردن آنتی بادی اولیه تا ظهور سیگنال در مدت زمان حدود ۹۰ دقیقه قابل انجام است. از این سیستم می توان برای آنتی بادی های اولیه با منشا موشی و خرگوشی و شناسایی آنتی ژن های سطحی، سیتوپلاسمی و یا داخل هسته ای استفاده نمود.

محتویات کیت:

۱- بروشور کیت
۲- محلول لینکر دوگانه (Dual Linker)
۳- محلول شناساگر Poly-HRP (Poly-HRP detection system)
۴- محلول DAB (DAB solution A)
۵- محلول رقیق کننده DAB (DAB solution B)
۶- قطره چکان خالی برای DAB (DAB empty dropper)

موارد استفاده/منع مصرف:

- برای تشخیص آزمایشگاهی و تحقیقاتی
- در صورت کدورت، از محلول های کین استفاده نکنید.
- پس از انقضاء تاریخ از کیت استفاده نکنید.
- محتویات کیت غیر استریل است.

عملکرد کیت:

آنتی بادیهای موجود در کیت از طریق کروماتوگرافی جذبی با ایمونوگلوبولین انسان جذب شده اند تا میزان واکنش متقاطع آنها با ایمونوگلوبولین انسان به حداقل برسد. آنتی بادی بزی ضد موش با تمام زیر کلاسهای IgG موش و نیز با IgM موش واکنش می دهد. آنتی بادی بزی ضد خرگوش با تمام ایمونوگلوبولین های خرگوش واکنش می دهد. آنزیم پراکسیداز استفاده شده در این کیت دارای فعالیت ویژه بالایی است و تمامی آنزیمهای آزاد از طریق کروماتوگرافی ژل فیلتراسیون حذف شده اند.

روش کار:

۱- برش بافتی را پارافین‌زدایی و آبدهی کنید.
۲- بازیابی آنتی‌ژن را با استفاده از بافر EDTA با pH=9 (SB-049971) به مدت ۲۰ تا ۴۰ دقیقه انجام دهید.
۳- برش بافتی را با بافر TBS دو بار هر بار به مدت ۳ دقیقه شستشو دهید.
۴- پراکسیدازهای آندوژن بافت را با انکوباسیون برش بافتی با ۰/۳٪ H_2O_2 به مدت ۱۵ دقیقه خنثی نمایید.
۵- اسلایدها را مطابق مرحله ۳ شستشو دهید.
۶- آنتی بادی اولیه را به مدت ۳۰ تا ۴۵ دقیقه روی بافت انکوبه کنید. مدت زمان انکوباسیون برش بافتی با آنتی بادی اولیه به افینیتی آنتی بادی بستگی دارد. مدت زمان ۳۰ دقیقه انکوباسیون برای آنتی بادی های تولیدی شرکت زیست فناوران سینا کافی است. مدت زمان انکوباسیون برای آنتی بادی های تولید شده توسط سایر شرکت ها باید توسط مصرف کننده تعیین شود.

۷- برش بافتی را دو بار و هر بار ۳ دقیقه با TBS حاوی ۱/۵ ٪ BSA شستشو دهید.
۸- دو قطره از محلول Dual Linker لینکر دوگانه بر روی بافت اضافه کرده و ۳۰ دقیقه انکوبه کنید.
۹- برش بافتی را مطابق مرحله ۷ شستشو دهید.
۱۰- محلول Poly-HRP آماده مصرف را به بافت اضافه کنید و انکوباسیون را ۳۰ تا ۴۰دقیقه ادامه دهید. توجه داشته باشید به دلیل حساسیت محلول Poly-HRP به نور، انکوباسیون بافت ها در این مرحله باید در تاریکی انجام شود.
۱۱- در طی مدت زمان انکوباسیون بافت با محلول Poly-HRP، محلول آماده مصرف DAB را تهیه نمایید. برای این منظور یک قطره از محلول DAB را به ۱ میلی لیتر از بافر رقیق کننده DAB اضافه نمایید. یک میلی لیتر از محلول آماده مصرف DAB برای حدود ۱۰ برش بافتی کافی است.
۱۲- برش بافتی را مطابق مرحله ۷ شستشو دهید.
۱۳- محلول آماده مصرف DAB را به مدت ۱۰ دقیقه به برش بافتی اضافه کنید. توجه داشته باشید به دلیل حساسیت DAB به نور، انکوباسیون بافت ها با DAB باید در تاریکی انجام شود.
۱۴- برش بافتی را با آب مقطر شستشو دهید.
۱۵- پس از رنگ آمیزی با هماتوکسیلین، اسلاید را با آب شهر شستشو دهید.
۱۶- پس از انجام مراحل آبگیری، اسلاید را مانت کنید.

احتیاط:

۱- این کیت باید در یخچال نگهداری شود. پس از هر بار استفاده، آنرا به داخل یخچال برگردانید.
۲- در کارکردن با DAB از دستکش استفاده نمایید.
۳- این محلول غیر استریل است.
۴- در صورت کدر شدن محلول ها و یا انقضا تاریخ مصرف، از کیت استفاده نکنید.
۵- مدت پایداری این کیت ۹ ماه در دمای ۴°C است.
۶- در هر نوبت کاری از کنترل مثبت و منفی بافت استفاده کنید. در صورت اطمینان از صحت تمام مراحل و بروز اشکال در نتایج رنگ آمیزی، با بخش فنی شرکت زیست فناوران سینا تماس بگیرید.

راهنمای رفع اشکال:

*رنگ آمیزی بیش از حد:

۱- غلظت آنتی بادی اولیه و یا مدت زمان انکوباسیون آن بیش از حد مجاز است.
۲- درجه حرارت آزمایشگاه در زمان انکوباسیون بافت با آنتی بادی اولیه یا BioVision بالا است (درجه حرارت توصیه شده ۲۰-۲۶°C است).

*سیگنال مزاحم:

۱- شستشوی مراحل ناکافی است.
۲- بافت طی مراحل رنگ آمیزی خشک شده است.
۳- بافت حاوی تا خوردگی و یا قسمت های نکروتیک است.
۴- مدت زمان انکوباسیون با آنتی بادی اولیه یا BioVision بیش از حد مجاز است.
۵- آنتی ژن مورد نظر از سلول خارج شده است (این پدیده عمدتا در بافت هایی مانند تیروئید برای تیروگلوبولین، بافت تخمدان برای CA125 و یا آنتی ژن های محلول رخ می دهد).
۶- محل های اتصال غیر اختصاصی در بافت به خوبی Block نشده است. در استفاده از آنتی بادی ها و یا BioVision ساخت شرکت زیست فناوران سینا نیازی به مرحله Blocking وجود ندارد.

*رنگ آمیزی ضعیف:

۱- غلظت آنتی بادی و یا مدت زمان انکوباسیون آن کافی نیست.
۲- محلول های مورد استفاده و یا محلول های شستشو تاریخ گذشته و یا دارای pH نامناسب می باشد.
۳- شستشوی بافت در مراحل رنگ آمیزی بیش از حد توصیه شده انجام شده است و یا بخشی از محلول شستشو قبل از اضافه کردن معرف های اصلی شامل آنتی بادی اولیه و یا BioVision روی بافت باقی مانده است.
۴- حرارت آزمایشگاه سرد است.
۵- مرحله بازیافت آنتی ژن (Retrieval) به خوبی انجام نشده است و یا از بافر مناسبی برای بازیافت آنتی ژن استفاده نشده است. توصیه می شود از بافر شرکت زیست فناوران سینا با شماره کاتالوگ SB-049971 استفاده شود.
۶- آنتی بادی اولیه مورد استفاده مناسب نیست و نمی تواند آنتی ژن را در بلوک های پارافینی شناسایی نماید.
۷- DAB با محلول BioVision مخلوط شده است. (توجه داشته باشید که محتویات هیچ کدام از محلول های کیت نباید با یکدیگر مخلوط شود).
۸- آنتی بادی اولیه موشی یا خرگوشی نیست.

*عدم وجود سیگنال:

۱- مراحل رنگ آمیزی به درستی انجام نشده است.
۲- آنتی ژن مورد نظر در بافت وجود ندارد.
۳- آنتی بادی اولیه از منشا موش و خرگوش نیست.
۴- محلول DAB و یا یکی از اجزاء موجود در کیت خراب شده است.