



## کیت اندازه گیری فعالیت آرژیناز (Arginase) Arginase Assay Kit CN. KPG-ARG

آنزیم آرژیناز (Arginase EC 3.5.3.1) یک آنزیم کلیدی در چرخه اوره است که نقش اساسی در متابولیسم نیتروژن ایفا میکند. این آنزیم، ال-آرژینین را به اوره و ال-اورنیتین هیدرولیز میکند و اوره به وجود آمده در این کیت مورد اندازه گیری قرار می گیرد. آرژیناز در دو ایزوفرم ۱ و ۲ وجود دارد که به ترتیب در کبد و بافت های غیر کبدی بیان میشوند و در بیماری هایی مانند هایپر آمونی، بیماری های کبدی، سرطان و اختلالات ایمنی نقش دارند. کیت کارمانیا پارس ژن قادر به بررسی هر دو ایزوفرم می باشد. این کیت با دارا بودن حساسیت بالا، تکرار پذیری زیادی نیز دارد. برای استفاده از این کیت دقت کنید که نمونه ها عاری از آمونیاک باشند زیرا با اجرای کیت تداخل عملکرد دارد.

### محتویات کیت:

۱. بافر رقیق کننده (Diluent Reagent) (KPG-ARGGLY9.5)
۲. سوبسترا (Substrate) (KPG-ARGSUB)
۳. محلول متوقف کننده (Stopping Buffer) (KPG-ARGST)
۴. محلول شمار ۱ (Solution 1) (KPG-ARGS1)
۵. محلول شمار ۲ (Solution 2) (KPG-ARGS2)
۶. استاندارد (Standard) (KPG-ARGSTD)
۷. پلیت الایزا

### آماده سازی محلول ها:

- برای آماده سازی سوبسترا، در کیت ۹۶ تستی به میزان ۵ میلی لیتر (در کیت ۴۸ تستی به میزان ۲/۵ میلی لیتر) از بافر رقیق کننده را به ظرف سوبسترا اضافه کرده و به خوبی مخلوط کنید.
  - برای آماده سازی محلول شماره ۱ در کیت ۹۶ تستی به میزان ۵ میلی لیتر (در کیت ۴۸ تستی به میزان ۲/۵ میلی لیتر) از آب مقطر را به ویال محلول شماره ۱ اضافه کرده و به خوبی مخلوط کنید.
- تمامی محلول ها بعد از آماده سازی یک هفته در تاریکی در دمای یخچال پایدار هستند.

### آماده سازی استانداردها:

- برای آماده سازی استاندارد ۱۰۰۰ میلی مولار اوره، به میزان ۱ میلی لیتر از بافر رقیق کننده را به ظرف ظرف استاندارد اضافه کرده و به خوبی مخلوط کنید.
  - در ادامه با رقیق سازی به نسبت یک دوم با استفاده از بافر رقیق کننده (نیم سی سی از استاندارد + نیم سی سی بافر رقیق کننده)، مقادیر ۵۰۰، ۲۵۰، ۱۲۵، ۶۲/۵، ۳۱/۲۵، ۱۵/۶ و ۷/۸ را بسازید.
- تمامی استانداردها ها بعد از آماده سازی یک هفته در تاریکی در دمای یخچال پایدار هستند.

### آماده سازی نمونه:

در مواردی که از سرم، پلاسما یا ادرار استفاده میکنید نیازی به رقیق سازی نمونه نیست اما در صورتیکه در نهایت میزان فعالیت آرژیناز در نمونه زیاد باشد (od بالای ۲) رنگ نهایی از دامنه خطی خارج شده و نتایج ها معتبر نخواهد بود. بنابراین در این موارد باید نمونه باید رقیق شود (معمولا  $\frac{1}{2}$ ). در مواردی که نمونه بافت می باشد، ابتدا ۵۰ میلی گرم از بافت را در ۵۰۰ میکرولیتر بافر رقیق کننده کاملاً هموژن کرده (این عمل در دمای سرد انجام شود، به طور مثال بافر رقیق کننده را با انکوبه یک ساعته در یخچال سرد کنید) و سپس در دور RPM ۱۰۰۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ کرده و در نهایت مایع رویی را برای انجام تست به میزان یک پنجم با بافر رقیق کننده رقیق کرده (مثلاً ۲۰ میکرولیتر نمونه با ۸۰ میکرولیتر بافر رقیق کننده) و سپس در تست استفاده کنید. دقت نمایید در صورتیکه در نهایت میزان رنگ محسوس نباشد میزان رقت را باید کم کرد (مثلاً  $\frac{1}{2}$ ).

### روش انجام تست:

۱. قبل از شروع آزمایش مطمئن شوید تمام محلول ها دارای دمای محیطی باشند.
۲. ۵۰ میکرولیتر از هر یک از استانداردها را به چاهک های الایزا اضافه کنید. از هر نمونه ۵۰ میکرولیتر به دو چاهک الایزا اضافه کنید یکی برای تست اصلی و دیگری به عنوان بلانک نمونه. در ادامه به چاهک های استاندارد و نمونه اصلی (تست اصلی) به میزان ۵۰ میکرولیتر سوبسترا اضافه کنید (دقت کنید به چاهک بلانک هر نمونه سوبسترا نباید اضافه شود زیرا این چاهک برای بررسی اوره موجود در نمونه مورد بررسی قرار میگیرد نه اوره به وجود آمده در اثر فعالیت آرژیناز).
۳. پلیت الایزا را در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد به مدت ۳۰ دقیقه انکوبه کنید و سپس ۱۰ میکرولیتر بافر متوقف کننده به تمامی چاهک ها اضافه کنید.
۴. ۵۰ میکرولیتر محلول شماره ۱ و ۵۰ میکرولیتر محلول شماره ۲ را به تمامی چاهک ها اضافه کنید و به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۷۵ درجه سانتیگراد انکوبه کنید.
۵. پلیت را در دستگاه الایزا ریدر قرار داده و در طول موج ۵۳۰ نانومتر مورد اندازه گیری قرار دهید.
- ۶.

**محاسبات:** برای گزارش نهایی ابتدا بایستی مقادیر (Urea sample) به دست آمده از نمونه اصلی (تست اصلی) را از بلانک هر نمونه کم کرد سپس میزان فعالیت آرژیناز را می توان به ۳ صورت محاسبه و گزارش کرد:

۱. در صورتیکه پروتئین تام را در نمونه اندازه گیری کرده اید از فرمول زیر استفاده کنید و فعالیت آنزیم را بر حسب  $\text{mmol/min/mg protein}$  گزارش کنید:

$$\text{Arginase Activity} = \frac{\text{Urea sample} \times \text{Sample valume}}{t \times \text{Total protein (mg)}}$$

در این فرمول حجم نمونه ۰/۰۵ میلی لیتر و زمان (t) واکنش ۳۰ دقیقه می باشد.

۲. در صورت عدم اندازه گیری پروتئین تام، نتایج را میتوان بر حسب اوره تولیدی بر حسب زمان یعنی  $\frac{\text{Urea (mM)}}{t \text{ (Min)}}$  و یا بر حسب اوره تولیدی (mM) گزارش کرد.

**دستورالعمل های ایمنی:** محلول های مورد استفاده در این کیت برای بافت انسان خطرناک هستند، از این رو، در موارد تماس با پوست، چشم و غیره، با آب شسته و برای درمان اضافی به بیمارستان مراجعه کنید.

**کیت های مشابه در حیطه اکسیدان ها و آنتی اکسیدان ها تولیدی کارمانیا پارس ژن:**

۱. کیت بررسی فعالیت تام آنتی اکسیدانی (FRAP)
  ۲. کیت بررسی فعالیت کاتالاز
  ۳. کیت بررسی فعالیت MDA
  ۴. کیت بررسی میزان NO
  ۵. کیت بررسی فعالیت پاراکسوناز-۱
  ۶. کیت بررسی میزان استیل کولین استراز
  ۷. کیت بررسی فعالیت SOD
  ۸. کیت اندازه گیری توتال پروتئین
  ۹. کیت بررسی فعالیت میلوپراکسیداز
- کارمانیا پارس ژن تولید کننده کیت های:
۱. الایزا برای اندازه گیری سایتوکین ها
  ۲. استخراج DNA و RNA به روش های ستونی، رسوبی و نانوذرات مگنت
  ۳. اندازه گیری miRNAها
  ۴. محصولات مرتبط با کشت سلول مانند FBS، محیط کشت و سلول های سرطانی و بنیادی مزانشیمال
  ۵. میکروتیوب ها دستگاه های Real-Time PCR
  ۶. ستون های تخلیص DNA و RNA

در صورت داشتن سول فنی با ما در تماس باشید

WWW.KARMANIAPARSGEN.IR ۰۹۱۳۲۹۲۶۱۱۳