

کیت اندازه گیری فعالیت کاتالاز Catalase Activity Assay Kit Catalog Nos. KPG-CAT

• محتویات کیت:

۱. محلول A (CN. KPG-CATa)
 ۲. محلول B (CN. KPG-CATb)
 ۳. محلول C (CN. KPG-CATc)
- موارد مورد نیاز که در کیت موجود نیست:
۱. سمپلر و سر سمپلر
 ۲. سانتریفیوژ
 ۳. الیزا ریدر حاوی طول موج ۵۷۰ نانومتر

آماده سازی محلول ها:

- برای آماده سازی محلول A در کیت ۹۶ تستی ۵۰ میلی لیتر (در کیت ۴۸ تستی به میزان ۲۵ میلی لیتر) آب مقطر اضافه کنید.
- آماده سازی محلول کار:
- محلول A آماده شده را به نسبت ۱ به ۳ با اسید استیک و به میزان مورد نیاز مخلوط کنید. به طور مثال = ۱۰۰ میکرولیتر از محلول A با ۳۰۰ میکرولیتر اسید استیک. (محلول A مخلوط با اسید تهیه شده به مدت ۷۲ ساعت و در مکان تاریک پایدار می باشد).
- محلول B و C باید قبل از آزمایش مخلوط شوند. بر این اساس، آنها را در نسبت های ۱/۲۰۰ مخلوط کنید. به عنوان مثال، اگر نیاز به آزمایش ۴ نمونه دارید، ۹۹۵ میکرولیتر محلول B را با ۵ میکرولیتر محلول C مخلوط کنید. (مخلوط فقط به مدت ۴۸ ساعت پایدار است و باید بلافاصله قبل از آزمایش آماده شود).

روش انجام تست:

۱. قبل از شروع آزمایش، اجزای کیت را به مدت ۲۰ دقیقه در دمای اتاق نگه دارید.
۲. مواد را طبق جدول زیر در میکروتیوب های ۱/۵ میلی لیتری اضافه کنید.

	Test	Negative Control	Standard	Blank
Sample	25 µL	25 µL	-	-
Distilled water	-	250 µL	25 µL	275 µL
Mix B and C solution	250 µL	-	250 µL	-

۳. لوله ها را به مدت ۳ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد انکوبه و سپس به تمامی لوله ها به جز بلانک ۵۰۰ میکرولیتر از محلول A آماده شده را اضافه کنید.
 ۴. تمام لوله ها را به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۱۰۰ درجه سانتیگراد انکوبه کنید و سپس در دور ۲۵۰۰ به مدت ۵ دقیقه سانتریفیوژ کنید.
 ۵. ۲۰۰ میکرولیتر از مایع رویی را به چاهک های پلیت ELISA منتقل کنید و OD آن را در طول موج ۵۷۰ نانومتر ارزیابی کنید.
 ۶. برای محاسبه فعالیت کاتالاز از فرمول زیر استفاده کنید:
- $$\text{Catalase Activity } \left(\frac{\text{KU}}{\text{L}} \right) = [S' - (S - M)] \times \frac{2.33}{T} \times \frac{Vt}{Vs}$$
- S'=Absorbance of standard, S= Absorbance of Test,
M= Absorbance of negative control, VT=Total Volume and
VS= Volume of sample
- با توجه به اینکه حاصل تقسیم ۲/۳۰۳ بر ۳ عدد ۰/۷۶۷۶۶۶۶۶ می باشد و همچنین حاصل تقسیم حجم نهایی بر حجم نمونه عدد ۱۶ است و حاصل ضرب ۰/۷۶۷۶۶۶۶۶ بر ۱۶ عدد ۱۲/۲۸۸۲ می باشد، بنابراین از فرمول زیر استفاده کنید:
- $$\text{Catalase activity (KU/L)} = [S' - (S - M)] \times 12.282$$
- دقت نمایید هر چه فعالیت کاتالاز بیشتر باشد میزان رنگ به وجود آمده (سبز) نیز کمتر خواهد بود زیرا محلول C بیشتر مصرف شده و وارد واکنش با محلول A نمی شود.
- به همین دلیل است که استاندارد که فاقد کاتالاز است با محلول A کاملاً واکنش می کند. بنابراین در مواردی که میزان رنگ نمونه نارنجی بماند و نمونه ها یکدست نارنجی شوند نشان از مصرف کامل محلول C و بالا بودن میزان کاتالاز در نمونه است. در این موارد نمونه را حداقل یک دوم رقیق کنید. پیشنهاد می شود قبل از انجام تمامی تست ها، یک نمونه را در رقت های مختلف تست کرده و سپس باقی نمونه ها در رقت مناسب (OD: 0.5-1) آماده سازی شوند.

دقت نمایید OD مربوط به استاندارد عددی در حدود ۰/۶ تا ۰/۸ می باشد. در صورتیکه این عدد کمتر بود به همان نسبت مقادیر برای مخلوط کردن محلول های B و C را تغییر دهید. به طور مثال در صورتیکه جذب به دست آمده برای استاندارد ۰/۳ باشد، این نسبت باید به صورت ۱/۵۰ شود. بنابراین پیشنهاد می شود ابتدا یک تست برای استاندارد گذاشته و در صورت به دست آوردن OD مناسب برای استاندارد، تست بر روی نمونه ها انجام گردد.

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 SOD
۳. کیت بررسی فعالیت MDA
۴. کیت بررسی میزان NO
۵. کیت بررسی فعالیت پاراکسوناز-۱
۶. کیت بررسی میزان کربونیل پروتئین

کارمانیا پارس ژن تولید کننده کیت های:

۱. الیزا برای اندازه گیری سایتوکین ها
۲. استخراج DNA و RNA به روش های ستونی، رسوبی و نانوذرات مغنت
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
۷. محصولات یکبار مصرف آزمایشگاهی مانند یورین باتل و ...

با ما در تماس باشید

۰۹۱۳۲۹۲۶۱۱۳-۰۲۱۹۱۶۹۲۲۹۶

WWW.KARMANIAPARSGEN.IR