



کیت اندازه گیری همزمان فعالیت میلوپراکسیداز و ROS

Myeloperoxidase and ROS Assay Kit

Catalog No. KPG-MyPrROS

میلوپروکسیداز (MPO) آنزیمی از نوع پراکسیداز است که تشکیل اسیدهیپوکلرو را کاتالیز میکند و در گرانولهای آزروفیل لکوسیتها مخصوصاً در نوتروفیلها ذخیره میشود. این آنزیم در واکنشهای التهابی آزاد شده و میتواند مارکری برای فعالیت نوتروفیلها در آماس باشد. مقادیر طبیعی فعالیت MPO در سرم انسان سالم معمولاً در بازه حدود ۱ تا ۲۰ U/mL گزارش شده است، اما این مقدار بسته به روش اندازه گیری و کیت مورد استفاده متفاوت است. از طرفی در تمامی مطالعات باید مقادیر گروه های مورد مطالعه نسبت به گروه کنترل سنجش شوند.

گونه های فعال اکسیژن (ROS) مولکول ها یا رادیکال های آزادی هستند که از اکسیژن مشتق شده و بسیار واکنش پذیرند. این مولکول ها به طور طبیعی در سلول های سالم و تحت استرس تولید می شوند و نقش مهمی در فرآیندهای سلولی مانند انتقال پیام و پاسخ به تنش ها دارند. اگرچه ROS در سطوح کنترل شده برای عملکردهای سلولی ضروری اند، تجمع بیش از حد آن ها می تواند منجر به آسیب شود. مقادیر دقیق طبیعی ROS در سرم متغیر است و بسته به روش اندازه گیری و نمونه گیری متفاوت است، اما در منابع علمی معمولاً مقادیر ROS در نمونه های زیستی سالم در محدوده ۱۰ تا ۶۰ میکرومول گزارش شده است.

اساس کیت کارمانیا پارس ژن بر مهار فعالیت میلوپراکسیداز و ROS در یک ویال (بلانک نمونه) و در دو ویال دیگر غیر فعال کردن ROS و میلوپراکسیداز و محاسبه میزان هر کدام بر مبنای واکنش با تترا متیل بنزدین (TMB) و پراکسید هیدروژن بوده و در طول موج ۴۵۰ نانومتر سنجش می شود. کیت اندازه گیری فعالیت میلوپراکسیداز و ROS کارمانیا پارس ژن روشی ساده، تکرارپذیر و استاندارد برای اندازه گیری همزمان میزان فعالیت پراکسیدی آنزیم میلوپراکسیداز و میزان توتال ROS است که در نمونه های بیولوژیکی مانند سرم، پلاسما، ادرار، بافت هموزنه و لیزات سلولی استفاده می شود.

• محتویات کیت:

۱. بافر رقیق کننده نمونه (Sample buffer) (KPG-PBSS5.9): ۸۰ میلی لیتر
۲. بافر A (Buffer A) (KPG-Na10m)
۳. بافر B (Buffer B) (KPG-PG2m)
۴. بافر C (Buffer C) (KPG-Et96): ۱۰ میلی لیتر
۵. سوبسترا (Substrate) (KPG-SUB): ۱۵ میلی لیتر
۶. بافر متوقف کننده (Stopping Buffer) (KPG-ST): ۷/۵ میلی لیتر
۷. پلیت الایزا (۳ عدد)

• موارد مورد نیاز که در کیت موجود نیست:

سمپلر و سر سمپلر، الایزا ریدر حاوی طول موج ۴۵۰ نانومتر

آماده سازی محلول ها:

محلول A: در کیت ۹۶ تستی ۱۰ میلی لیتر (در کیت ۴۸ تستی ۵ میلی لیتر) از بافر رقیق کننده به ویال بافر A اضافه کرده و به خوبی مخلوط کنید.

محلول B: در کیت ۹۶ تستی ۱۰ میلی لیتر (در کیت ۴۸ تستی ۵ میلی لیتر) از بافر C به ویال بافر B اضافه کرده و به خوبی مخلوط کنید. این بافر به مدت ۲۴ ساعت بعد از افزودن بافر C پایدار است.

دقت کنید مقادیر پودر موجود در بافر A و B کم بوده و در برخی موارد قابل رویت نیست، بنابراین بعد از باز کردن درب از واژگون کردن آن ها خودداری کنید. بافر رقیق کننده، سوبسترا و بافر متوقف کننده آماده به کار هستند و نیازی به آماده سازی ندارند.

آماده سازی نمونه:

اگر از سرم، پلاسما یا ادرار استفاده میکنید نیازی به رقیق سازی نمونه نیست. در مواردی که نمونه بافت می باشد، ابتدا ۵۰ میلی گرم از بافت را در ۵۰۰ میکرولیتر بافر رقیق کننده نمونه کاملاً هموزن 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 ۵۰۰ سانتریفیوژ کرده و در نهایت مایع رویی را برای انجام تست به میزان یک پنجم (مثلاً ۱۰ میکرولیتر نمونه با ۴۰ میکرولیتر بافر رقیق کننده نمونه) با بافر رقیق کننده نمونه رقیق کرده و سپس در تست استفاده کنید. دقت نمایید در صورتیکه در نهایت ROS OD از ۲ بیشتر باشد باید نمونه را بیشتر رقیق نمایید و اگر از ۱ کمتر باشد باید کمتر رقیق شود.

روش انجام تست:

۱. قبل از شروع آزمایش، اجزای کیت را به مدت ۲۰ دقیقه در دمای اتاق نگه دارید.
۲. برای هر نمونه ۳ چاهک الایزا در نظر بگیرید و به تمامی آن ها ۱۰ میکرولیتر از نمونه و ۴۰ میکرولیتر بافر رقیق کننده اضافه کنید. یک چاهک به عنوان بلانک نمونه، یک چاهک میلوپراکسیداز و یک چاهک به عنوان ROS می باشد.
۳. به چاهک بلانک ۵ میکرولیتر از بافر B و ۵ میکرولیتر از بافر A، به چاهک میلوپراکسیداز ۵ میکرولیتر از بافر B و به چاهک ROS به میزان ۵ میکرولیتر از بافر A اضافه کنید و با حرکت دادن پلیت به مدت ۱۰ ثانیه از مخلوط شدن محتوای چاهک ها مطمئن شوید و در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد به مدت ۱۰ دقیقه انکوبه کنید.
۴. به میزان ۵۰ میکرولیتر سوبسترا به تمامی چاهک ها اضافه کنید و به مدت ۲۰ دقیقه بر روی شیکر (RPM ۲۰۰) انکوبه کنید.
۵. به میزان ۲۵ میکرولیتر بافر متوقف کننده اضافه کنید و بلافاصله در طول موج ۴۵۰ نانومتر اندازه گیری کنید.

محاسبات:

برای محاسبه فعالیت میلوپراکسیداز (U/mL) و میزان ROS (μM) جذب حاصل از چاهک میلوپراکسیداز و ROS را از جذب بلانک نمونه کسر کرده و در عدد ۲۴/۸۵۸ ضرب کنید.

MPO activity (U/mL): (Absorbance MPO – Absorbance Blank) $\times$ 24.858
ROS (μM): (Absorbance ROS – Absorbance Blank) $\times$ 24.858

عدد ثابت ذکر شده با محاسبه فاصله نور تا نمونه در پلیت الایزا، ضریب خاموشی ماده رنگ زا، زمان واکنش و رقت محاسبه شده است.

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 اندازه گیری فعالیت آرژیناز
۱۰. کیت بررسی میزان تیول آزاد
۱۱. کیت بررسی میزان فعالیت GPX
۱۲. کیت بررسی میزان فعالیت میلوپراکسیداز
۱۳. کیت اندازه گیری ROS

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 miRNA ها
۴. محصولات مرتبط با کشت سلول مانند FBS، محیط کشت و سلول های سرطانی و بنیادی مزانشیما
۵. میکروتیوب ها دستگاه های Real-Time PCR
۶. ستون های تخلیص DNA و RNA
۷. محصولات یکبار مصرف آزمایشگاهی مانند ستون استخراج

با ما در تماس باشید

WWW.KARMANIAPARSGEN.IR-۰۹۱۳۲۹۲۶۱۱۳