



کیت اندازه گیری فعالیت وضعیت تام اکسیدانی Total Oxidant Status (TOS) Assay Kit CN. KPG-TOS

گونه‌های فعال اکسیژن و نیتروژن در جریان فرآیندهای متابولیکی و فیزیولوژیکی بدن تولید می‌شوند. این ترکیبات می‌توانند واکنش‌های اکسیداتیو مضر ایجاد کنند که بر ارگانسیم‌های دخیل در مکانسیم‌های آنتی‌اکسیدانی (آنزیمی و غیرآنزیمی) تأثیر منفی بگذارند. در شرایط خاص، زمانی که سطح اکسیدان‌ها افزایش می‌یابد و میزان آنتی‌اکسیدان‌ها کاهش پیدا می‌کند، سیستم دفاعی بدن قادر به جلوگیری از آسیب‌های اکسیداتیو نبوده و در نتیجه، اختلالات گسترده‌ای در عملکرد بدن پدید می‌آید.

غلظت سرمی (یا پلاسمایی) گونه‌های مختلف اکسیدان را می‌توان به‌طور جداگانه اندازه‌گیری کرد، اما این روش‌های سنجش معمولاً زمان‌بر، پرهزینه و پرزحمت هستند و به تکنیک‌های پیچیده آزمایشگاهی نیاز دارند. از آنجا که ارزیابی تک‌تک مولکول‌های اکسیدان به‌صورت مجزا عملی نیست و اثرات اکسیداتیو آنها نیز به‌صورت تجمعی است، از شاخصی به نام وضعیت کلی اکسیدان‌ها (TOS) استفاده می‌شود. این شاخص، میزان کل پراکسیدها و فعالیت اکسیداتیو موجود در نمونه را به‌صورت یکجا اندازه‌گیری می‌کند و به‌عنوان معیاری برای ارزیابی استرس اکسیداتیو به‌کار می‌رود.

کیت حاضر به دلیل استفاده از تک محلول آماده به کار، در میان سایر کیت‌های موجود در بازار از سادگی و سهولت کار بسیار بالایی برخوردار است. کیت سنجش فعالیت وضعیت تام اکسیدانی تولیدی شرکت کارمانیا پارس ژن، روشی استاندارد، قابل اطمینان و ساده برای ارزیابی وضعیت تام اکسیدانی در نمونه‌های زیستی نظیر سرم، پلاسما، ادرار، بافت و لیفات سلولی ارائه می‌دهد.

۱. محتویات کیت:

- معرف وضعیت تام اکسیدانی (Reagent TOS) (KPG-RTOS)
- بافر رقیق کننده معرف (TOS Dillution Buffer) (KPG-PBSS2/7)
- بافر رقیق کننده استاندارد (Standard Dillution buffer) (KPG-PBSS6)
- استاندارد وضعیت تام اکسیدانی (TOS Standard) (KPG-TOSST)
- پلیت الایزا

موارد مورد نیاز که در کیت موجود نیست: سمپلر و سر سمپلر، الایزا ریدر حاوی طول موج ۵۶۰ نانومتر

آماده سازی محلول‌ها:

معرف وضعیت تام اکسیدانی به صورت پودر است و باید در کیت ۹۶ تستی به آن ۵۰ میلی لیتر (در کیت ۴۸ تستی ۲۵ سی سی) بافر رقیق کننده معرف اضافه نمایید. معرف در دمای محیط به مدت یک ساعت پایداری دارد. بنابراین در زمان نیاز معرف را آماده کنید و در کمتر از یک ساعت از کیت استفاده کنید. در صورت نگهداری معرف وضعیت تام اکسیدانی بعد از انجام تست، به مرور زمان رنگ معرف عوض خواهد شد و بنفش رنگ خواهد شد. در صورت نیاز مجدد ابتدا به معرف اسید HCL غلیظ اضافه کرده تا رنگ معرف نارنجی رنگ شود و سپس مجدد استفاده نمایید. دقت کنید که در این حالت حساسیت کیت کاهش پیدا می‌کند.

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 TOS در نمونه زیاد باشد رنگ نهایی به جای بنفش به سمت خاکستری پیش می‌رود بنابراین در این موارد باید نمونه رقیق شود (معمولاً یک دوم). در مواردی که نمونه بافت می‌باشد، ابتدا ۵۰ میلی گرم از بافت را در ۵۰۰ میکرولیتر بافر رقیق کننده استاندارد کاملاً هموژن کرده (این عمل در دمای سرد انجام شود، به طورمثال 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 (مثلاً ۲۰ میکرولیتر نمونه با ۸۰ میکرولیتر بافر رقیق کننده استاندارد) با بافر رقیق کننده استاندارد رقیق کرده و سپس در تست استفاده کنید. دقت نمایید در صورتیکه در نهایت میزان OD نمونه از استاندارد ۲/۵ میلی مولار بر میلی لیتر بیشتر شد، باید نمونه را بیشتر رقیق نمایید.

آماده سازی استاندارد:

به ویال حاوی استاندارد ۵ سی سی بافر رقیق کننده استاندارد اضافه کنید و خوب مخلوط کنید. در این حالت ۲/۵ میلی مولار بر میلی لیتر (mM/mL) از محلول استاندارد آماده شده است. برای ساخت محلول‌های ۰/۸۳، ۰/۲۷، ۰/۰۹ میلی مولار بر میلی لیتر، باید طبق جدول زیر عمل کنید. استاندارد کیت به مدت ۱ ماه در دمای محیط پایداری دارد.

استاندارد ۲/۵ میلی مولار بر میلی لیتر	بافر رقیق کننده استاندارد	غلظت نهایی
600 µL	0 µL	۲۵ میلی مولار بر میلی لیتر
200 µL	400 µL	۰/۸۳ میلی مولار بر میلی لیتر
66 µL	534 µL	۰/۲۷ میلی مولار بر میلی لیتر
22 µL	578 µL	۰/۰۹ میلی مولار بر میلی لیتر

روش انجام تست:

- قبل از شروع آزمایش، اجزای کیت را به مدت ۲۰ دقیقه در دمای اتاق نگه دارید.
- به میزان ۱۰ میکرولیتر از نمونه و ۱۰ میکرولیتر از هر یک از استاندارد‌های ۲/۵ تا ۰/۰۹ میلی مولار بر میلی لیتر (mM/mL) را به میکروتیوب‌های مناسب (به طور مثال میکروتیوب ۱/۵ سی سی) اضافه کنید. به یکی از میکروتیوب‌ها ۱۰ میکرولیتر بافر رقیق کننده استاندارد به عنوان بلانک اضافه کنید.
- به میزان ۴۰۰ میکرولیتر معرف وضعیت تام اکسیدانی به تمام میکروتیوب‌ها اضافه کنید و به خوبی مخلوط کنید. دقت نمایید ابتدا معرف را به میکروتیوب نمونه‌ها و سپس به میکروتیوب مربوط به استاندارد‌ها و بلانک اضافه کنید.
- میکروتیوب‌ها را مخلوط و در دمای محیط به مدت ۴ دقیقه انکوبه کرده و در ادامه ۲۰۰ میکرولیتر از محلول نهایی را به پلیت الایزا منتقل و در طول موج ۵۶۰ نانومتر اندازه‌گیری کنید. دقت نمایید تبدیل رنگ نارنجی به بنفش نشان دهنده انجام واکنش است.

محاسبات: داده‌ها را بر طبق منحنی استاندارد و بر اساس میلی مولار بر میلی لیتر گزارش کنید.

برای محاسبه میزان وضعیت تام اکسیدانی بر حسب میلی گرم پروتئین، نیاز به اندازه‌گیری میزان تام پروتئین (توتال پروتئین) در نمونه دارید. ما کیت اندازه‌گیری توتال پروتئین کارمانیا پارس ژن را پیشنهاد می‌دهیم چون بر اساس تکنولوژی BCA است و از روش برادفورد حساسیت بسیار بالاتری دارد. در صورت محاسبه میزان پروتئین تام، داده به دست آمده را بر میزان تام پروتئین تقسیم کرده و داده را به صورت میلی مولار بر میلی گرم (mM/mg) گزارش نمایید. **دستورالعمل‌های ایمنی:** محلول‌های 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.

کیت‌های مشابه در حیطه اکسیدان‌ها و آنتی اکسیدان‌ها تولیدی کارمانیا پارس ژن:

- کیت بررسی فعالیت تام آنتی اکسیدانی (FRAP; TAC)
- کیت بررسی فعالیت کاتالاز
- کیت بررسی فعالیت MDA
- کیت بررسی میزان NO
- کیت بررسی فعالیت پاراکسوناز-۱
- کیت بررسی میزان استیل کولین استراز
- کیت بررسی فعالیت SOD
- کیت اندازه‌گیری توتال پروتئین
- کیت بررسی فعالیت میلوپراکسیداز
- کارمانیا پارس ژن تولید کننده کیت‌های:
 - الایزا برای اندازه‌گیری سایتوکین‌ها
 - استخراج DNA و RNA به روش‌های ستونی، رسوبی و نانوذرات مگنت
 - اندازه‌گیری miRNA
 - محصولات مرتبط با کشت سلول مانند FBS، محیط کشت و سلول‌های سرطانی و بنیادی مزانشیمال
 - میکروتیوب‌ها دستگاه‌های Real-Time PCR
 - ستون‌های تخلیص DNA و RNA

با ما در تماس باشید

WWW.KARMANIAPARSGEN.IR ۰۹۱۳۲۹۲۶۱۱۳