



کیت سنجش OHdG-8: بررسی استرس اکسیداتیو DNA OHdG-8 DNA stress oxidative Assay Kit CN. KPG-OHdG

یکی از دقیق‌ترین نشانگرهای آسیب در سطح سلولی، ۸-هیدروکسی-۲-دئوکسی گوانوزین (OHdG-8) است. این مولکول، اثری است که استرس اکسیداتیو بر روی DNA ما به جای می‌گذارد و افزایش آن در نمونه‌های بیولوژیکی، نشانه‌ای هشداردهنده از آسیب DNA و افزایش خطر ابتلا به بیماری‌های مختلف است. کیت سنجش OHdG-8 کارمانیا پارس ژن بر اساس واکنش نشانگر مولکولی ویژه که با OHdG-8 واکنش کرده و ترکیب رنگی به وجود می‌آورد که نشان دهنده میزان این مولکول در DNA مورد بررسی می‌باشد.

محتویات کیت:

۱. محلول A (OHdG Solution A) (KPG-OHdGSA)
 ۲. محلول B (OHdG Solution B) (KPG-OHdGSB)
 ۳. محلول C (OHdG Solution C) (KPG-OHdGSC)
 ۴. محلول D (OHdG Solution D) (KPG-OHdGSD)
 ۵. پلیت الایزا
- موارد مورد نیاز که در کیت موجود نیست:** ۱. سمپلر و سر سمپلر، ۲. الایزا ریدر حاوی طول موج ۵۱۷ نانومتر

آماده سازی محلول ها:

- برای آماده سازی محلول A، در کیت ۹۶ تستی ۵ سی سی (در کیت ۴۸ تستی ۲/۵ سی سی) از آب مقطر را به ویال محلول A اضافه کرده و به خوبی مخلوط کنید.
- برای آماده سازی محلول B، محتویات محلول C را به ویال محلول B اضافه کرده و به خوبی مخلوط کنید.
- برای آماده سازی محلول D، ۱ میلی لیتر از آب مقطر را به ویال محلول D اضافه کرده و به خوبی مخلوط کنید.

آماده سازی کنترل مثبت:

برای آماده سازی کنترل مثبت ابتدا ۵۰ تا ۱۰۰ میکروگرم از DNA خالص شده را در میکروتیوب تمیز و استریل اضافه کرده سپس ۵ میکرولیتر از آب اکسیژنه رقیق شده (مخلوط ۲/۵ میکرولیتر از H_2O_2 ۳۰ درصد با ۲ میلی لیتر آب مقطر) را به آن اضافه کرده سپس به مدت ۵ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد انکوبه کنید.

آماده سازی نمونه:

نمونه DNA بایستی قبل از استفاده در این کیت، توسط کیت های تجاری خالص سازی شود. برای این منظور ما کیت استخراج DNA کارمانیا پارس ژن را پیشنهاد می‌کنیم.

روش انجام تست:

۱. قبل از شروع آزمایش مطمئن شوید تمام محلول ها دارای دمای محیطی باشند.
۲. ۵۰ تا ۱۰۰ میکروگرم از DNA خالص شده را به یک میکروتیوب ۰/۵ سی سی اضافه کنید و ۵۰ میکرولیتر محلول A اضافه کنید و بعد از مخلوط کردن، به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۹۵ درجه سانتیگراد انکوبه کنید. دقت نمایید که یک میکروتیوب را به عنوان بلانک انتخاب کرده و به آن فقط ۵۰ میکرولیتر محلول A اضافه نمایید. برای کنترل مثبت نیز تمام محتویات کنترل مثبت را به میکروتیوب ۰/۵ سی سی منتقل کرده و سپس ۵۰ میکرولیتر محلول A اضافه کنید و بعد از مخلوط کردن، همراه با نمونه ها به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۹۵ درجه سانتیگراد انکوبه کنید.
۳. ۱۰۰ میکرولیتر از محلول B به همراه ۱۰ میکرولیتر از محلول D را به تمامی میکروتیوب ها اضافه کنید و به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۹۵ درجه سانتیگراد انکوبه کنید.
۴. میکروتیوب ها را به مدت ۳ دقیقه در دمای محیط انکوبه کنید تا به دمای محیط برسند و در ادامه ۷۰ میکرولیتر از نمونه ها و بلانک را به چاهک های الایزا منتقل کرده و در طول موج ۵۳۲ نانومتر خوانش کنید.
۵. برای گزارش داده ها بر حسب درصد آسیب اکسیداتیو می‌توانید از فرمول زیر استفاده کنید:

$$\text{Oxidative stress percent} = \left(\frac{\text{Absorbance Test} - \text{Absorbance Blank}}{\text{Absorbance Blank}} \right) \times 100$$
 - دقت داشته باشید که درصد استرس اکسیداتیو DNA به عوامل زیادی بستگی دارد، به عنوان مثال نمونه خون با بافت تفاوت دارد. نمونه فریز شده با تازه تفاوت دارد. روش تخلیص DNA بر روی این استرس اکسیداتیو اثر گذار است به گونه ای که روش فنل/کلروفرم لین درصد را افزایش می‌دهد. گونه های جانوری با یکدیگر متفاوت هستند. بنابراین در تمام مطالعات حتما از تعداد مناسب کنترل سالم برای مقایسه گروه مورد بررسی استفاده کنید.
 - معمولا میزان رنگ ایجاد شده در کنترل مثبت دو برای DNA سالم می‌باشد.

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 miRNA ها
 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