

کیت اندازه گیری محصولات پروتئینی اکسید شده پیشرفته Advanced Oxidation Protein Products (AOPP) Assay Kit Catalog Nos. KPG-AOPP

در زیست‌شناسی مدرن و پزشکی، استرس اکسیداتیو به عنوان یکی از ارکان اصلی پاتوفیزیولوژی بسیاری از بیماری‌های مزمن شناخته می‌شود. این وضعیت هنگامی رخ می‌دهد که بین تولید گونه‌های فعال اکسیژن و توانایی سیستم‌های آنتی‌اکسیدانی بدن برای خنثی‌سازی آن‌ها تعادل وجود نداشته باشد. از میان اهداف مختلف آسیب اکسیداتیو، پروتئین‌ها به دلیل فراوانی، نیمه‌عمر نسبتاً طولانی و حساسیت بالا، از مهم‌ترین قربانیان این حمله محسوب می‌شوند. محصولات پروتئینی اکسید شده پیشرفته (AOPP)، مجموعه‌ای از ترکیبات پروتئینی دچار تغییر شکل یافته هستند که در نتیجه حمله گونه‌های فعال اکسیژن ایجاد می‌شوند. از نظر ساختاری، AOPPها اغلب به صورت دی‌تیروزین‌های کراس‌لینک شده و دیگر محصولات اکسید شده پروتئین‌ها ظاهر می‌شوند که منجر به ایجاد ساختارهای پروتئینی با وزن مولکولی بالا می‌گردند. این ترکیبات تنها یک محصول بی‌اثر آسیب اکسیداتیو نیستند، بلکه خود به عنوان عاملین فعال در فرآیندهای بیماری‌زا عمل می‌کنند. آن‌ها به طور مشخص التهاب را تشدید می‌کنند، در پاتوژن بیماری‌های کلیوی نقش محوری دارند و یک نشانگر (بیومارکر) قوی هستند. اندازه‌گیری سطح پلاسمایی AOPPها به عنوان یک روش معتبر برای ارزیابی کمی استرس اکسیداتیو در بدن در بیماری‌هایی مانند دیابت، آترواسکلروز، نارسایی مزمن کلیه و بیماری‌های کبدی مورد استفاده قرار می‌گیرد. کیت سنجش میزان AOPP ساخت کارمانیا پارس ژن با دقت و حساسیت بالا قادر به تشخیص میزان این پروتئینهای اکسید شده می‌باشد.

محتویات کیت:

۱. محلول پیش استاندارد A (Pre-standard A) (CN. KPG-AOPNAOCL)
۲. محلول پیش استاندارد B (Pre-standard B) (CN. KPG-AOPNCL)
۳. بافر رقیق کننده نمونه (Sample reagent) (CN. KPG-AOPPB0/18)
۴. سوبسترا A (Substrate A) (CN. KPG-AOPPKIA)
۵. سوبسترا B (Substrate B) (CN. KPG-AOPPACB)
۶. پلیت الایزا

موارد مورد نیاز که در کیت موجود نیست:

سمپلر و سر سمپلر، سانتریفیوژ، الایزا ریدر حاوی طول موج ۳۷۰ نانومتر، آب مقطر

آماده سازی محلول‌ها:

- برای آماده سازی سوبسترا A، در کیت ۹۶ تستی به میزان ۱ میلی لیتر (در کیت ۴۸ تستی به میزان ۰/۵ میلی لیتر) از آب مقطر را به محتویات بطری اضافه کرده و به خوبی مخلوط کنید.
- در ادامه برای آماده سازی معرف AOPP در کیت ۹۶ تستی به میزان ۱ میلی لیتر (در کیت ۴۸ تستی به میزان ۰/۵ میلی لیتر) از سوبسترا A را با ۴ میلی لیتر از سوبسترا B (در کیت ۴۸ تستی با ۲ میلی لیتر از سوبسترا B) مخلوط کنید.

آماده سازی استاندارد:

➤ برای آماده سازی استاندارد، محلول پیش استاندارد A را به محلول پیش استاندارد B اضافه کرده و به خوبی مخلوط کنید و سپس به میزان ۱ میلی لیتر از بافر رقیق کننده به آن اضافه کنید. در این حالت استاندارد اول کیت با غلظت ۶۴۰ میکرومول آماده است. با رقت سازی در رقت های یک دوم، با استفاده از بافر رقیق کننده، ۳۲۰، ۱۶۰، ۸۰، ۴۰ و ۲۰ میکرومول بر لیتر را بسازید (جدول را مشاهده کنید).

استاندارد تهیه شده به مدت ۲۴ ساعت و در دمای یخچال پایدار می باشد.

Std	غلظت	بافر رقیق کننده	استاندارد شماره ۱	OD مورد انتظار
۱	640 µM/L	0 µL	500 µL	۲-۳
2	320 µM/L	200 µL	200 µL	۱-۱/۵
3	160 µM/L	150 µL	50 µL	۰/۵-۰/۸
4	80 µM/L	175 µL	25 µL	۰/۱-۰/۳
5	40 µM/L	187.5 µL	12.5 µL	۰/۱-۰/۲
6	20 µM/L	193.75 µL	6.25 µL	۰/۱-۰/۱۵

آماده سازی نمونه: نمونه سرم، پلاسما، و ادرار نیاز به آماده سازی ندارد و مستقیماً استفاده می شود. برای آماده سازی نمونه بافت، ابتدا ۲۵ میلی گرم از بافت را در ۵۰۰ میکرولیتر بافر رقیق کننده هموزن کرده، سپس در دور RPM ۱۱۰۰۰ به مدت ۳ دقیقه سانتریفیوژ کرده و مایع رویی را با احتیاط و با سمپلر جدا کرده و در تست استفاده کنید. دقت نمایید در مواردی که میزان جذب AOPP در نمونه هموزن شده از بالاترین استاندارد هم بیشتر باشد، باید نمونه با بافر رقیق کننده به نسبت های یک دوم و یا یک سوم رقیق شود. بنابراین قبل از انجام تست حتماً با یک نمونه تعیین رقت کنید. از نمونه سوپرناونت کشت سلول به دلیل داشتن معرف های رنگی حساس به Ph استفاده نکنید بلکه نمونه سلول را بایستی ابتدا از محیط جمع آوری کرد سپس با PBS شستشو داد و سپس در بافر رپا مخصوص تست های استرس اکسیداتیو (میتوانید از کارمانیا پارس ژن تهیه کنید) با دستگاه سونیکاتور کاملاً لیز کرده و لیزات سلول را سانتریفیوژ کرده و از سوپرناونت برای تست استفاده کنید. دقت نمایید، در صورتیکه دستگاه سونیکاتور ندارید، نمونه سلول غوطه ور شده در بافر رپا را به تعداد ۱۰ مرتبه فریز و ذوب کنید و در هر بار به شدت مخلوط کنید.

روش انجام تست:

۱. مواد موجود در کیت را به مدت یک ساعت در دمای محیط قرار دهید تا همگی به دمای محیط برسند.
۲. برای هر نمونه دو چاهک در نظر بگیرید. یکی برای تست AOPP و دیگری بلانک نمونه.
۳. به چاهک های الایزا (پلیت آماده در کیت) به میزان ۱۰۰ میکرولیتر بافر رقیق کننده به چاهک های مربوط به نمونه (هم تست هم بلانک) و استاندارد اضافه کنید.
۴. به چاهک تست نمونه ۱۰۰ میکرولیتر از نمونه، به چاهک بلانک نمونه ۱۵۰ میکرولیتر بافر رقیق کننده و به چاهک های استاندارد ۱۰۰ میکرولیتر از هر استاندارد اضافه کنید.
۵. به میزان ۵۰ میکرولیتر از معرف AOPP به تمامی چاهک ها (به جز بلانک نمونه) اضافه کرده و به مدت ۲ دقیقه در تاریکی و در دمای محیط انکوبه کنید.
۶. میزان جذب را در طول موج ۳۴۰ نانومتر مورد اندازه گیری قرار دهید و با استفاده از نمودار استاندارد میزان غلظت AOPP ها را به صورت میکرومول بر لیتر گزارش کنید.
۷. در صورتیکه میزان پروتئین توتال را نیز اندازه گیری کرده اید (پیشنهاد ما استفاده از کیت اندازه گیری پروتئین توتال به روش BCA ساخت کارمانیا پارس ژن است)، عدد به دست آمده را ابتدا بر عدد ۱۰۰۰ تقسیم کرده تا مقادیر به صورت میکرومول بر میلی لیتر محاسبه شوند، سپس این عدد را بر میزان پروتئین تام (میکروگرم بر میلی لیتر) تقسیم کرده و داده ها را به صورت میکرومول بر میکروگرم گزارش کنید (µM/µg).

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 میزان استیل کولین
۸. کیت بررسی فعالیت SOD
۹. کیت اندازه گیری توتال پروتئین
۱۰. کیت بررسی فعالیت میلوپراکسیداز
۱۱. کیت سنجش مقادیر ROS
۱۲. کیت سنجش فعالیت همزمان ROS و میلوپراکسیداز
۱۳. کیت سنجش فعالیت GPX
۱۴. کیت سنجش فعالیت پراکسیدروکسین ها
۱۵. کیت سنجش فعالیت پراکسیداز شیر
۱۶. کیت سنجش فعالیت آلکالین فسفاتاز شیر
۱۷. کیت سنجش میزان GSSG (گلوتاتیون اکسید شده)
۱۸. کیت سنجش میزان واحدهای تیول آزاد (گلوتاتیون احیا)
۱۹. کیت سنجش فعالیت آرزیناز
۲۰. کیت سنجش وضعیت آنتی اکسیدان ها با روش DPPH
۲۱. کیت سنجش میزان کربونیل پروتئین پراکسیداز شیر
۲۲. کیت سنجش میزان توتال اکسیدان ها (TOS)
۲۳. کیت اندازه گیری فعالیت تام آنتی اکسیدانی به روش CUPRAC

کارمانیا پارس ژن تولید کننده کیت های:

۱. الایزا برای اندازه گیری سایتوکین ها
۲. استخراج DNA و RNA به روش های سنتونی، رسوبی و نانوذرات مگنت
۳. اندازه گیری miRNA
۴. محصولات مرتبط با کشت سلول مانند FBS، محیط کشت و سلول های سرطانی و بنیادی مزانشیمال
۵. میکروتیبو ها دستگاه های Real-Time PCR
۶. ستون های تخلیص DNA و RNA
۷. سرمپلر های ۱۰ سانتی متری با و بدون فیلتر

با ما در تماس باشید

۰۹۱۳۲۹۲۶۱۱۳-۰۳۴۳۴۲۰۸۰۲۵

WWW.KARMANIAPARSGEN.IR