کیت اندازه گیری کربونیل پروتئین

Protein Carbonyl Assay Kit Catalog Nos. KPG-PC

برای اندازه گیری کربونیل پروتئین از واکنش این مولکول با ۲،۴-دی نیتروفنیل هیدرازین (DNPH) استفاده می شود. به دنبال این واکنش و رسوب محصول به وجود آمده و محلول کردن نهایی، میزان جذب در طول موج ۳۷۰ یا ۳۷۵ نانومتر مورد ارزیابی قرار می گیرد. مقادیر به دست آمده بر حسب nmol/mL به دست می آید. در ادامه با اندازه گیری پروتئین تام، نسبت nmol carbonyl/mg protein محاسبه می شود.

محتویات کیت:

۱. معرف DNPH (CN. KPG-DNPH)
۲. بافر رسوب دهنده (Percipitation) (CN. KPG-PCP) ۴۰ میلی لیتر
۳. بافر لیز A (CN. KPG-PCA) ۱۳۰ میلی لیتر
۴. بافر لیز B (CN. KPG-PCB)
۵. بافر لیز C (CN. KPG-PCC) ۲۰ میلی لیتر
۶. بافر شستشو (CN. KPG-PCW) ۳۰۰ میلی لیتر
۷. پلیت الایزا

موارد مورد نیاز که در کیت موجود نیست: سمپلر و سر سمپلر، سانتریفیوژ، الایزا ریدر حاوی طول موج ۳۷۰-۳۷۵ نانومتر، آب مقطر

آماده سازی محلول ها:

- برای آماده سازی **معرف DNPH**، در کیت ۹۶ تستی به میزان ۱۰ میلی لیتر (در کیت ۴۸ تستی به میزان ۵ میلی لیتر) از بافر C را به محتویات بطری **معرف DNPH** اضافه کرده و به خوبی مخلوط کنید.
- برای آماده سازی **بافر B**، در کیت ۹۶ تستی به میزان ۸۰ میلی لیتر (در کیت ۴۸ تستی به میزان ۴۰ میلی لیتر) از بافر A را به محتویات بافر B اضافه کرده و به خوبی مخلوط کنید.
- برای آماده سازی بافر رسوب دهنده، در کیت ۹۶ تستی به میزان ۴۰ میلی لیتر (در کیت ۴۸ تستی به میزان ۲۰ میلی لیتر) آب مقطر به ظرف بافر رسوب دهنده اضافه کرده به خوبی مخلوط کنید تا کاملا محلول شود.

معرف های تهیه شده به مدت ۷۲ ساعت و در دمای یخچال پایدار می باشد.

آماده سازی نمونه:

- نمونه سرم، پلاسما، و ادرار نیاز به آماده سازی ندارد و مستقیما استفاده می شود.
- برای آماده سازی نمونه بافت، ابتدا ۲۵ میلی گرم از بافت را در ۵۰۰ میکرولیتر بافر لیز A هموژن کرده، سپس در دور ۱۱۰۰۰ RPM به مدت ۳ دقیقه سانتریفیوژ کرده و مایع رویی را با حتیاط و با سمپلر جدا کرده و در تست استفاده کنید.
- از نمونه سوپرنانانت 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 ریپا مخصوص تست های استرس اکسیداتیو (میتوانید از کارمانیا پارس ژن تهیه کنید) با دستگاه سونیکاتور کاملا لیز کرده و لیزات سلول را سانتریفیوژ کرده و از سوپرناتانت برای تست استفاده کنید. دقت نمایید، درصورتیکه دستگاه سونیکاتور ندارید، نمونه سلول غوطه ور شده در بافر ریپا را به تعداد ۱۰ مرتبه فریز و ذوب کنید و در هر بار به شدت مخلوط کنید.

روش انجام تست:

۱. قبل از شروع آزمایش، اجزای کیت را به مدت ۲۰ دقیقه در دمای اتاق نگه دارید.
۲. برای هر نمونه دو میکروتیوب ۱/۵ میلی لیتری در نظر گرفته (یکی برای تست DNPH و دیگری برای بلانک نمونه) و به هر دو به میزان ۱۰۰ میکرولیتر از نمونه اضافه کنید (دقت کنید درصورتیکه میزان نمونه شما کم میباشد میتوانید میزان نمونه را ۵۰ میکرولیتر در نظر بگیرید و مقادیر به کار رفته باقی بافر ها در این کیت را نصف کنید اما موقع برداشتن مایع رویی بعد از سانتریفیوژ باید با دقت زیاد عمل کنید).
۳. به میزان ۱۰۰ میکرولیتر معرف DNPH به میکروتیوب تست و ۱۰۰ میکرولیتر بافر C به میکروتیوب بلانک اضافه کنید و به خوبی مخلوط و به مدت ۱ ساعت در دمای اتاق و در تاریکی انکوبه کنید. برای عملکرد بهتر، هر ۱۵ دقیقه یکبار مخلوط کنید.
۴. ۲۰۰ میکرولیتر از بافر رسوب دهنده به تمامی چاهک ها اضافه کنید و بعد از مخلوط کردن به مدت ۱۰ دقیقه بر روی یخ انکوبه کنید.
۵. میکروتیوب ها را در دور ۱۱۰۰۰ RPM به مدت ۳ دقیقه سانتریفیوژ کرده و مایع رویی را با حتیاط و با سمپلر بیرون بریزید.
۶. به میزان ۷۵۰ میکرولیتر از بافر شستشو را به میکروتیوب ها اضافه کرده و به خوبی مخلوط کنید. درصورتیکه رسوب پروتئین به خوبی همگون نشد، با همزن شیشه ای کاملا همگون کنید و سپس به مدت ۱۰ دقیقه در دمای اتاق انکوبه کرده و در ادامه در دور ۱۱۰۰۰ RPM به مدت ۳ دقیقه سانتریفیوژ کنید و مایع رویی را با احتیاط با سمپلر جدا کرده و بیرون بریزید. این عمل را برای میکروتیوب تست DNPH دو بار دیگر تکرار کنید (میکروتیوب بلانک نیاز به شستشوی مجدد ندارد).
۷. به میزان ۴۰۰ میکرولیتر بافر B به تمام میکروتیوب ها اعم از تست و بلانک اضافه کرده و بعد از مخلوط کردن و همگون کردن با همزن شیشه ای، به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد انکوبه کنید.
۸. به میزان ۲۰۰ میکرولیتر از هر میکروتیوب به چاهک های الایزا موجود در کیت اضافه کرده و در طول موج ۳۷۰ یا ۳۷۵ نانومتر خوانش کنید و از فرمول زیر برای محاسبه استفاده کنید:

$$\text{Carbonyl Protein (nmol/mL)}: (A_T - A_B) \times 45$$

دقت نمایید مقادیرطبیعی در سرم بین ۷ تا ۳۵ نانومول بر میلی لیتر می باشد.

در صورتیکه میزان توتال پروتئین را هم اندازه گیری کرده اید (ما کیت اندازه گیری توتال پروتئین کارمانیا پارس ژن را پیشنهاد می دهیم) از فرمول زیر استفاده کنید:

$$\text{Carbonyl Protein (nmol/µg)} = \frac{\text{Carbonyl Protein (nmol/mL)}}{\text{Protein concentration (µg/mL)}}$$

برای سهولت محاسبه داده ها، فایل ایکسل طراحی شده توسط کمپانی KPG را از بارکد زیر دانلود کنید:

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**

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 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

۰۹۱۳۲۹۲۶۱۱۳-۰۳۴۳۴۲۰۸۰۲۵

WWW.KARMANIAPARSGEN.IR