



کیت اندازه گیری فعالیت کولین استراز Choline Esterase Activity Assay Kit CN. KPG-ChEs

آنزیم‌های کولین استراز (ChE) خانواده‌ای از آنزیم‌های مهم و حیاتی هستند که نقش کلیدی در سیستم عصبی جانوران، از جمله انسان، ایفا می‌کنند. وظیفه اصلی این آنزیم‌ها، هیدرولیز و تجزیه انتقال‌دهنده‌های عصبی استیل‌کولین و سایر استرهای کولین است. این فرآیند برای پایان دادن به سیگنال‌دهی عصبی در سیناپس‌ها و اتصالات عصبی-عضلانی ضروری است و از تجمع بیش از حد استیل‌کولین که می‌تواند منجر به انقباض مداوم عضلانی و اختلالات عصبی شدید شود، جلوگیری می‌کند. آنزیم‌های کولین استراز عمدتاً به دو شکل مهم وجود دارند: استیل‌کولین استراز که به طور خاص و با سرعت بسیار بالا استیل‌کولین را تجزیه می‌کند و بوتیریل کولین استراز که طیف وسیع‌تری از سوبستراها از جمله بوتیریل کولین را متابولیز می‌کند. سنجش فعالیت این آنزیم‌ها به دلایل متعددی در پژوهش‌های علوم زیستی، پزشکی، سم‌شناسی و صنایع کشاورزی از اهمیت بالایی برخوردار است. کیت سنجش فعالیت آنزیم کولین استراز کارمانیا پارس ژن یک راه حل کامل، قابل اعتماد و بهینه‌شده برای اندازه‌گیری دقیق و سریع فعالیت این آنزیم در نمونه‌های مختلف بیولوژیکی (مانند سرم، پلاسما، بافت، همولف حشرات و کشت سلولی) ارائه می‌دهد. اساس کار این کیت بر پایه روش طیف‌سنجی (اسپکتروفتومتری) و با استفاده از الایزا ریدر است.

• محتویات کیت:

معرف A (CN. KPG-ChEA)

استاندارد (CN. KPG-ChES)

- موارد مورد نیاز که در کیت موجود نیست: سمپلر و سر سمپلر، سانتریفیوژ، الایزا ریدر حاوی طول موج ۵۶۰ نانومتر، آب مقطر، اتانل ۹۶ درصد

آماده سازی محلول ها:

➤ برای آماده سازی معرف کولین استراز، در کیت ۹۶ تستی به میزان ۱/۵ میلی لیتر (در کیت ۴۸ تستی به میزان ۷۵۰ میکرولیتر) از اتانل ۹۶ درصد را به هر ظرف مربوط به معرف کولین استراز اضافه کنید و به خوبی مخلوط کنید. در ادامه در کیت ۹۶ تستی ۳/۵ میلی لیتر (در کیت ۴۸ تستی به میزان ۱۷۵۰ میکرولیتر) آب مقطر به ظرف مربوط به معرف کولین استراز اضافه کنید. دقت نمایید در صورتیکه معرف به خوبی حل نشود (به دلیل تفاوت کیفیت اتانل)، با استفاده از حمام التراسونیک و یا پروب سونیکاتور اقدام به حل کردن معرف کنید. در صورت عدم موجود بودن دستگاه های ذکر شده به خوبی (حداقل ۳ دقیقه) وورتکس کنید. دقت نمایید با توجه به ناپایدار بودن معرف کولین استراز، دو ظرف در کیت موجود است تا در زمان نیاز هر یک آماده سازی شوند

معرف تهیه شده به مدت ۷۲ ساعت و در مکان تاریک پایدار می باشد.

آماده سازی نمونه ها

در صورتیکه هدف بررسی فعالیت تام استیل کولین استراز می باشد به میزان ۱۰ میکرولیتر از خون تام حاوی ضد انعقاد را با ۸ میلی لیتر از آب مقطر محلول کرده و بعد از مخلوط کردن شدید، به مدت ۵ دقیقه در دمای اتاق انکوبه کنید. در صورتیکه هدف بررسی فعالیت استیل کولین استراز در RBC خالص می باشد ابتدا ۱ سی سی خون را با ۱۰ سی سی سرم فیزیولوژی و برای سه مرتبه شستشو کرده سپس ۱۰۰ میکرولیتر از خون شسته شده را با ۸ میلی لیتر از آب مقطر محلول کرده و بعد از مخلوط کردن شدید، به مدت ۵ دقیقه در دمای اتاق انکوبه کنید. در ادامه خون را به نسبت ۱/۴۰ با بافر PBS رقیق کنید. برای بررسی فعالیت استیل کولین استراز در نمونه بافت، ابتدا ۲۵ میلی گرم از بافت را در ۵۰۰ میکرولیتر بافر PBS هموژن کرده در ادامه به مدت ۵ دقیقه در دور RPM ۵۰۰۰ سانتریفیوژ کرده و از مایع رویی برای تست استفاده کنید. از نمونه سوپرناتانت 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 سوپرناتانت 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. قبل از شروع آزمایش، اجزای کیت را به مدت ۲۰ دقیقه در دمای اتاق نگه دارید.
۲. به میزان ۱۰۰ میکرولیتر از نمونه (نمونه های آماده شده خون تام، شسته شده یا سوپرناتانت بافت) را به چاهک الایزا اضافه کنید.
۳. به میزان ۱۰۰، ۵۰، ۲۵، ۱۲، ۶ و ۳ میکرولیتر از استاندارد به چاهک های جداگانه الایزا اضافه کنید و با نام های استاندارد ۱ (۱۶ U/mL)، ۲ (۸ U/mL)، ۳ (۴ U/mL)، ۴ (۲ U/mL)، ۵ (۱ U/mL) نامگذاری کنید.

شماره	استاندارد	غلظت
۱	۱۰۰ میکرولیتر	۱۶ U/mL
۲	۵۰ میکرولیتر	۸ U/mL
۳	۲۵ میکرولیتر	۴ U/mL
۴	۱۲ میکرولیتر	۲ U/mL
۵	۶ میکرولیتر	۱ U/mL

۴. به میزان ۱۰۰ میکرولیتر آب مقطر به چاهک بلانک اضافه کنید.
 ۵. ۱۰۰ میکرولیتر از معرف استیل کولین استراز به تمامی چاهک ها اضافه کنید و به مدت ۴۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد انکوبه کنید و در طول موج ۵۶۰ نانومتر اندازه گیری کنید.
- ابتدا مقادیر OD مربوط به بلانک را از نمونه ها و استانداردها کسر کرده سپس اقدام به رسم نمودار کرده و مقادیر نمونه ها را بر اساس نمودار به دست آورید. دقت فرمایید که مقادیر نرمال فعالیت استیل کولین استراز در بافت های مختلف با یکدیگر متفاوت می باشد. با این وجود در RBC بین ۱-۲ U/mL می باشد.
- در صورتیکه نیاز به محاسبه میزان مهار عملکرد آنزیم دارید از فرمول زیر استفاده کنید:

$$\text{Inhibition percent} = \left(1 - \frac{\text{A Sample}}{\text{A Control}}\right) \times 100$$

$$\text{sample} = \text{A} \quad \text{control} = \text{جذب نمونه حاوی بازدارنده}$$

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 ستونی، 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. میکروتیوب 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

WWW.KARMANIAPARSGEN.IR

karmaniaparsgene@gmail.com

@karmaniaparsgene