

کیت سنجش میزان HNE-4 (Hydroxynonenal-4) CN. KPG-HNE4

➤ محتویات کیت:

۱. بافر رقیق کننده نمونه (Sample dilution buffer) (KPG-DW)
۲. محلول A (HNE Solution A) (CN. KPG-HNEDMSO)
۳. محلول B (HNE Solution B) (CN. KPG-HNEDNP)
۴. بافر شستشو (HNE Wash) (CN. KPG-HNEHEX)
۵. کنترل مثبت (HNE PC) (CN. KPG-HNETM)

موارد مورد نیاز که در کیت موجود نیست:

سمپلر و سر سمپلر، ۲. سانتریفیوژ، ۳. الایزا ریدر حاوی طول موج ۳۷۸ نانومتر

آماده سازی محلول ها:

به محلول B در کیت ۹۶ تستی به میزان ۱۰ سی سی (در کیت ۴۸ تستی ۵ سی سی) از محلول A اضافه نمایید و به خوبی مخلوط کنید.
این محلول در یخچال به مدت ۳ ساعت پایداری دارد.

آماده سازی نمونه:

در مواردی که از سرم، پلاسما یا ادرار استفاده میکنید معمولاً نیازی به رقیق سازی نمونه نیست اما در صورتیکه در نهایت میزان HNE-4 در نمونه زیاد باشد، رنگ نهایی زیاد شده ($OD > 0.8$) و داده ها قابل اعتماد نمی باشند. بنابراین در این موارد باید نمونه باید با بافر رقیق کننده نمونه رقیق شود (به طور مثال ۵۰ میکرولیتر از نمونه را با ۵۰ میکرولیتر از بافر رقیق کننده مخلوط کنید). در مواردی که نمونه بافت می باشد، ابتدا ۲۵ میلی گرم از بافت را در ۵۰۰ میکرولیتر بافر رقیق کننده نمونه کاملاً هموزن کرده (این عمل در دمای سرد انجام شود، به طور مثال بافر رقیق کننده نمونه را با انکوبه یک ساعته در یخچال سرد کنید) و سپس در دور ۱۰۰۰۰ RPM به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ کرده و در نهایت مایع رویی را برای انجام تست به میزان یک پنجم با بافر رقیق کننده نمونه رقیق کرده (مثلاً ۲۰ میکرولیتر نمونه با ۸۰ میکرولیتر بافر رقیق کننده) و سپس در تست استفاده کنید. دقت نمائید در صورتیکه در نهایت میزان جذب محسوس نباشد ($OD < 0.1$) میزان رقت را باید کم کرد.

آماده سازی کنترل مثبت:

به میزان ۴ میکرولیتر از ظرف کنترل مثبت را به یک سی سی آب اضافه کرده به خوبی مخلوط کنید و سپس به مدت یک ساعت در دمای ۷۰ درجه سانتیگراد قرار دهید.

روش انجام تست:

۱. به تعداد نمونه ها میکروتیوب با حجم ۱/۵ یا ۲ سی سی شماره گذاری کنید و یک میکروتیوب را برای بلانک و یکی برای کنترل مثبت در نظر بگیرید.
۲. به میزان ۱۰۰ میکرولیتر از محلول B آماده شده به تمامی میکروتیوب های مربوط به نمونه ها، کنترل مثبت و بلانک اضافه کنید.
۳. به میزان ۵۰ میکرولیتر از نمونه به تمامی میکروتیوب های مربوط به نمونه ها و ۵۰ میکرولیتر از بافر رقیق کننده نمونه به میکروتیوب بلانک و ۵۰ میکرولیتر از کنترل مثبت آماده شده به میکروتیوب مربوطه اضافه کنید.
۴. میکروتیوب ها را به شدت مخلوط (Vortex) کنید و در دمای ۷۰ درجه سانتیگراد و در تاریکی به مدت ۶۰ دقیقه انکوبه کنید.
۵. به تمامی میکروتیوب ها به میزان ۴۰۰ میکرولیتر از بافر شستشو اضافه کرده و هر میکروتیوب را به مدت ۱ دقیقه مخلوط (Vortex) کنید.
۶. تمامی میکروتیوب ها دو فازی می شوند. به میزان ۱۵۰ میکرولیتر از فاز بالایی را به چاهک های الایزا اضافه کنید و بلافاصله در طول موج ۴۵۰ نانومتر اندازه گیری کنید. دقت نمائید به دلیل فرار بودن محصول نهایی، باید خوانش بلافاصله انجام شود.

به طور معمول بایستی کنترل مثبت دارای OD بین ۰/۳ تا ۰/۵ و بلانک دارای OD بین ۰/۱ تا ۰/۳ باشد. دقت نمائید در صورتیکه OD نمونه بیش از دو برابر کنترل مثبت باشد، بایستی نمونه رقیق شده و مجدداً تست نمونه انجام شود. به همین دلیل پیشنهاد می شود ابتدا یک تست با چند نمونه انجام شود و در صورتیکه داده ها مناسب بودند تست های اصلی انجام شوند و یا اینکه نمونه رقیق شده سپس تست ها انجام شوند.

محاسبه نتایج

برای محاسبه نتایج حاصل از جذب نمونه ها و بلانک، از فرمول زیر استفاده کنید:

$$\text{HNE-4 concentration} = \frac{(A \text{ Test} - A \text{ Blank}) \times df \times Vt}{\epsilon \times d \times Vs}$$

در این فرمول A Blank مربوط به بلانک و A Test مربوط به جذب نمونه، df ضریب رقت است، Vt مربوط به حجم کل، ϵ ضریب خاموشی سوبسترا، d مربوط به مسافت مسیر نور، و Vs مربوط به حجم نمونه است. با اعمال عددهای فوق فرمول به صورت زیر ساده می شود:

$$\text{HNE-4 concentration } (\mu\text{M}) = (A \text{ Test} - A \text{ Blank}) \times 5.4$$

مقادیر طبیعی برای سرم انسان سالم معمولاً در محدوده ۰،۱ تا ۰،۸ میکرومول (μM) قرار دارد اما به طور کل بر اساس مطالعات در سراسر دنیا نمی توان محدوده طبیعی مشخصی برای نمونه های زیستی تعیین کرد و در مطالعات تحقیقاتی بایستی یک گروه کنترل سالم مبنا قرار بگیرد.

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 پراکسیدوکسین 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 آروژیناز
۲۰. کیت سنجش وضعیت آنتی اکسیدان ها با روش DPPH
۲۱. کیت سنجش وضعیت آنتی اکسیدان ها با روش ABTS
۲۲. کیت سنجش وضعیت آنتی اکسیدان ها با روش CUPRAC
۲۳. کیت اندازه گیری محصولات پروتئینی اکسید شده پیشرفته (AOPP)
۲۴. کیت سنجش میزان کربونیل پروتئین پروتئین پراکسیداز شیر
۲۵. کیت سنجش میزان توتال اکسیدان ها (TOS)

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 مزانشیما
۵. میکروتیوب ها دستگاه های Real-Time PCR
۶. ستون های تخلیص DNA و RNA
۷. سرسمپلر های ۱۰ سانتی متری با و بدون فیلتر

با ما در تماس باشید

۰۹۱۳۲۹۶۱۱۳ WWW.KARMANIAPARSGEN.IR