

کیت اندازه گیری فعالیت میلوپراکسیداز

Myeloperoxidase Assay Kit
Catalog No. KPG-MyPr

میلوپروکسیداز (MPO) آنزیمی از نوع پراکسیداز است که تشکیل اسیدهیپوکلرو را کاتالیز میکند و در گرانولهای آزروفیل لکوسیتها مخصوصاً در نوتروفیلها ذخیره میشود. این آنزیم در واکنشهای التهابی آزاد شده و میتواند مارکری برای فعالیت نوتروفیلها در آماس باشد. مقادیر طبیعی فعالیت MPO در سرم انسان سالم معمولاً در بازه حدود ۱ تا ۲۰ U/mL گزارش شده است، اما این مقدار بسته به روش اندازه گیری و کیت مورد استفاده متفاوت است. از طرفی در تمامی مطالعات باید مقادیر گروه های مورد مطالعه نسبت به گروه کنترل سنجش شوند.

اساس کیت کارمانیا پارس ژن بر مهار فعالیت میلوپراکسیداز و رادیکال های آزاد در یک ویال (بلانک نمونه) و در ویال دیگر غیر فعال کردن رادیکال های آزاد به تنهایی برای محاسبه فعالیت میلوپراکسیداز و محاسبه میزان هر کدام بر مبنای واکنش با تترامتیل بنزدین (TMB) و پراکسید هیدروژن بوده و در طول موج ۴۵۰ نانومتر سنجش می شود. کیت اندازه گیری فعالیت میلوپراکسیداز کارمانیا پارس ژن روشی ساده، تکرارپذیر و استاندارد برای اندازه گیری همزمان میزان فعالیت پراکسیدی آنزیم میلوپراکسیداز است که در نمونه های بیولوژیکی مانند سرم، پلاسما، ادرار، بافت هموزنه و لیفات سلولی استفاده می شود.

• محتویات کیت:

۱. بافر رقیق کننده نمونه (Sample buffer) (KPG-PBSS5.9)
۲. بافر A (Buffer A) (KPG-Na10m)
۳. بافر B (Buffer B) (KPG-PG2m)
۴. بافر C (Buffer C) (KPG-Et96)
۵. سوبسترا (Substrate) (KPG-SUB)
۶. بافر متوقف کننده (Stopping Buffer) (KPG-ST)
۷. پلیت الایزا

• موارد مورد نیاز که در کیت موجود نیست:

سمپلر و سر سمپلر، الایزا ریدر حاوی طول موج ۴۵۰ نانومتر

آماده سازی محلول ها:

محلول A: در کیت ۹۶ تستی ۵ میلی لیتر (در کیت ۴۸ تستی ۲/۵ میلی لیتر) از بافر رقیق کننده به ویال بافر A اضافه کرده و به خوبی مخلوط کنید.

محلول B: در کیت ۹۶ تستی ۱۰ میلی لیتر (در کیت ۴۸ تستی ۵ میلی لیتر) از بافر C را به ویال بافر B اضافه کرده و به خوبی مخلوط کنید. این بافر به مدت ۲۴ ساعت بعد از افزودن بافر C پایدار است.

دقت کنید مقادیر پودر موجود در بافر A و B کم بوده و در برخی موارد قابل رویت نیست، بنابراین بعد از باز کردن درب از واژگون کردن آن ها خودداری کنید. بافر رقیق کننده، سوبسترا و بافر متوقف کننده آماده به کار هستند و نیازی به آماده سازی ندارند.

آماده سازی نمونه:

اگر از سرم، پلاسما یا ادرار استفاده میکنید نیازی به رقیق سازی نمونه نیست. در مواردی که نمونه بافت می باشد، ابتدا ۵۰ 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 را با انکوبه یک ساعته در یخچال سرد کنید) و سپس در دور RPM ۵۰۰۰ سانتریفیوژ کرده و در نهایت مایع رویی را برای انجام تست به میزان یک پنجم (مثلاً ۱۰ میکرولیتر نمونه با ۴۰ میکرولیتر بافر رقیق کننده نمونه) با بافر رقیق کننده نمونه رقیق کرده و سپس در تست استفاده کنید. دقت نمایید درصورتیکه در نهایت OD نمونه از ۱ بیشتر باشد باید نمونه را بیشتر رقیق نمایید و اگر از ۰/۱ کمتر باشد باید کمتر رقیق شود.

روش انجام تست:

۱. قبل از شروع آزمایش، اجزای کیت را به مدت ۲۰ دقیقه در دمای اتاق نگه دارید.
۲. برای هر نمونه ۲ چاهک الایزا در نظر بگیرید و به تمامی آن ها ۱۰ میکرولیتر از نمونه و ۴۰ میکرولیتر بافر رقیق کننده اضافه کنید. یک چاهک به عنوان بلانک نمونه و یک چاهک به عنوان میلوپراکسیداز می باشد.
۳. به چاهک بلانک ۵ میکرولیتر از بافر B و ۵ میکرولیتر از بافر A اضافه کنید و به چاهک میلوپراکسیداز ۵ میکرولیتر از بافر B اضافه کنید و با حرکت دادن پلیت به مدت ۱۰ ثانیه از مخلوط شدن محتوای چاهک ها مطمئن شوید و در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد به مدت ۱۰ دقیقه انکوبه کنید.
۴. به میزان ۵۰ میکرولیتر سوبسترا به تمامی چاهک ها اضافه کنید و به مدت ۲۰ دقیقه بر روی شیکر (RPM ۲۰۰) انکوبه کنید.
۵. به میزان ۲۵ میکرولیتر بافر متوقف کننده اضافه کنید و بلافاصله در طول موج ۴۵۰ نانومتر اندازه گیری کنید.

محاسبات:

برای محاسبه فعالیت میلوپراکسیداز (U/mL) جذب حاصل از چاهک میلوپراکسیداز را از جذب بلانک نمونه کسر کرده و در عدد ۲۴/۸۵۸ ضرب کنید.

$$\text{MPO activity (U/mL)}: (\text{Absorbance MPO} - \text{Absorbance Blank}) \times 24.858$$

عدد ثابت ذکر شده با محاسبه فاصله نور تا نمونه در پلیت الایزا، ضریب خاموشی ماده رنگ زا، زمان واکنش و رقت محاسبه شده است.

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 اندازه گیری فعالیت آرژیناز
۱۰. کیت بررسی میزان تیول آزاد
۱۱. کیت بررسی میزان فعالیت GPX
۱۲. کیت بررسی میزان فعالیت میلوپراکسیداز
۱۳. کیت اندازه گیری ROS

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 lamiRNA
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

با ما در تماس باشید

WWW.KARMANIAPARSGEN.IR-۰۹۱۳۲۹۲۶۱۱۳