

کیت سنجش OHdG-8: بررسی استرس اکسیداتیو DNA **OHdG-8 DNA stress oxidative Assay Kit CN. KPG-OHdG**

یکی از دقیق‌ترین نشانگرهای آسیب در سطح سلولی، ۸-هیدروکسی-۲-دئوکسی گوانوزین (OHdG-8) است. این مولکول، اثری است که استرس اکسیداتیو بر روی DNA ما به جای می‌گذارد و افزایش آن در نمونه‌های بیولوژیکی، نشانه‌ای هشداردهنده از آسیب DNA و افزایش خطر ابتلا به بیماری‌های مختلف است. کیت سنجش OHdG-8 کارمانیا پارس ژن بر اساس واکنش نشانگر مولکولی ویژه که با OHdG-8 واکنش کرده و ترکیب رنگی به وجود می‌آورد که نشان دهنده میزان این مولکول در DNA مورد بررسی می‌باشد.

محتویات کیت:

۱. محلول A (OHdG Solution A) (KPG-OHdGSA)
۲. محلول B (OHdG Solution B) (KPG-OHdGSB)
۳. محلول C (OHdG Solution C) (KPG-OHdGSC)
۴. محلول D (OHdG Solution D) (KPG-OHdGSD)
۵. استاندارد (OHdG Standard) (KPG-OHdGTM)
۶. آب مقطر دیونیزه (Dionised water) (KPG-DW)
۷. پلیت الایزا

موارد مورد نیاز که در کیت موجود نیست: ۱. سمپلر و سر سمپلر، ۲. الایزا ریدر حاوی طول موج ۵۱۷ نانومتر

آماده سازی محلول ها:

- برای آماده سازی محلول A، در کیت تستی ۵ سی سی (در کیت ۴۸ تستی ۲/۵ سی سی) از آب مقطر را به ویال محلول A اضافه کرده و به خوبی مخلوط کنید.
- برای آماده سازی محلول B، محتویات محلول C را به ویال محلول B اضافه کرده و به خوبی مخلوط کنید.
- برای آماده سازی محلول D، ۱ میلی لیتر از آب مقطر را به ویال محلول D اضافه کرده و به خوبی مخلوط کنید.

آماده سازی استاندارد:

به میزان ۴۰ میکرولیتر از استاندارد را در ۵۰۰ میکرولیتر از اتانل ۹۶ درصد محلول کرده سپس به میزان ۲۴/۵ میلی لیتر آب مقطر دیونیزه به آن اضافه کنید. در ادامه به مدت ۱ ساعت در دمای ۷۰ درجه سانتیگراد قرار دهید و در ادامه به دمای اتاق برسانید. در این حالت استاندارد اول با غلظت ۲۰ میکرومول آماده است. برای ساخت استاندارد های ۲/۴، ۳/۲، ۴/۲، ۵/۲ و ۶/۲ میکرومول، باید استاندارد اولیه را به نسبت ۱/۳ طبق جدول زیر رقیق کرد.

استاندارد	استاندارد ۱	آب مقطر	غلظت
استاندارد ۱	۳۰۰ میکرولیتر	۰ میکرولیتر	۲۰ میکرومول
استاندارد ۲	۱۰۰ میکرولیتر	۲۰۰ میکرولیتر	۶/۶ میکرومول
استاندارد ۳	۳۳ میکرولیتر	۲۶۷ میکرولیتر	۲/۲ میکرومول
استاندارد ۴	۱۱ میکرولیتر	۲۸۹ میکرولیتر	۰/۷۴ میکرومول
استاندارد ۵	۳/۷ میکرولیتر	۲۹۶/۳ میکرولیتر	۰/۲۴ میکرومول
بلاک	۰ میکرولیتر	۳۰۰ میکرولیتر	۰ میکرومول

آماده سازی نمونه:

نمونه DNA بایستی قبل از استفاده در این کیت، توسط کیت های تجاری خالص سازی شود. برای این منظور ما کیت استخراج DNA کارمانیا پارس ژن را پیشنهاد می کنیم.

روش انجام تست:

۱. قبل از شروع آزمایش مطمئن شوید تمام محلول ها دارای دمای محیطی باشند.
 ۲. ۵۰ میکروگرم از DNA خالص شده، ۲۵ میکرولیتر از هر یک استاندارد ها و ۲۵ میکرولیتر از بلاک را به میکروتیوب های ۰/۵ سی سی به طور جداگانه اضافه کنید و ۵۰ میکرولیتر محلول A به تمامی میکروتیوب ها اضافه کنید و بعد از مخلوط کردن، به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۷۰ درجه سانتیگراد انکوبه کنید.
 ۳. ۱۰۰ میکرولیتر از محلول B به همراه ۱۰ میکرولیتر از محلول D را به تمامی میکروتیوب ها اضافه کنید و به مدت ۵ دقیقه در دمای ۷۰ درجه سانتیگراد انکوبه کنید.
 ۴. میکروتیوب ها را به مدت ۲ دقیقه در دمای محیط انکوبه کنید تا به دمای محیط برسند و در ادامه ۱۰۰ میکرولیتر از نمونه ها و بلاک را به چاهک های الایزا منتقل کرده و در طول موج ۵۳۲ نانومتر خوانش کنید.
 ۵. برای گزارش داده ها بر حسب درصد آسیب اکسیداتیو می توانید از فرمول زیر استفاده کنید:

$$\text{Oxidative stress percent} = \left(\frac{\text{Absorbance Test} - \text{Absorbance Blank}}{\text{Absorbance Blank}} \right) \times 100$$
 - دقت داشته باشید که درصد استرس اکسیداتیو DNA به عوامل زیادی بستگی دارد، به عنوان مثال نمونه خون با بافت تفاوت دارد. نمونه فریز شده با تازه تفاوت دارد. روش تخلیص DNA بر روی این استرس اکسیداتیو اثر گذار است به گونه ای که روش فنل/کلروفرم لین درصد را افزایش می دهد. گونه های جانوری با یکدیگر متفاوت هستند. بنابراین در تمام مطالعات حتما از تعداد مناسب کنترل سالم برای مقایسه گروه مورد بررسی استفاده کنید.
 ۶. برای گزارش کمی بر حسب میکرومول، از نمودار استاندارد استفاده کنید.
- همانگونه که در قسمت قبل توضیح داده شد، مقادیر طبیعی در نمونه های مختلف و در روش های مختلف تخلیص DNA متفاوت می باشند، با این وجود، معمولا مقادیر نرمال برای DNA استخراج شده از خون محیطی انسان و با روش فنل/کلروفرم بین ۲-۸ میکرومول می باشد.

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 آزیزناز
 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 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 مغنت
 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
- سرسمپلر های ۱۰ سانتی متری با و بدون فیلتر

در صورت داشتن سول فنی با ما در تماس باشید

WWW.KARMANIAPARSGEN.IR ۰۹۱۳۲۹۲۶۱۱۳