

کیت اندازه گیری میزان ROS

ROS Assay Kit

Catalog No. KPG-ROS

گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) مولکول‌ها یا رادیکال‌های آزادی هستند که از اکسیژن مشتق شده و بسیار واکنش‌پذیرند. این مولکول‌ها به طور طبیعی در سلول‌های سالم و تحت استرس تولید می‌شوند و نقش مهمی در فرایندهای سلولی مانند انتقال پیام و پاسخ به تنش‌ها دارند. اگرچه ROS در سطوح کنترل‌شده برای عملکردهای سلولی ضروری‌اند، تجمع بیش از حد آن‌ها می‌تواند منجر به آسیب شود. مقادیر دقیق طبیعی ROS در سرم متغیر است و بسته به روش اندازه‌گیری و نمونه‌گیری متفاوت است، اما در منابع علمی معمولاً مقادیر ROS در نمونه‌های زیستی سالم در محدوده ۱۰ تا ۶۰ میکرومول گزارش شده است.

اساس کیت کارمانیا پارس ژن بر مهار فعالیت پراکسیدازها و تمامی رادیکال‌های آزاد در یک ویال (بلانک نمونه) و در ویال دیگر غیر فعال کردن پراکسیدازها و محاسبه میزان ROS بر مبنای واکنش با تترامتیل بنزدین (TMB) و پراکسید هیدروژن بوده و در طول موج ۴۵۰ نانومتر سنجش می‌شود. کیت اندازه‌گیری ROS کارمانیا پارس ژن روشی ساده، تکرارپذیر و استاندارد برای اندازه‌گیری میزان توتال ROS است که در نمونه‌های بیولوژیکی مانند سرم، پلاسما، ادرار، بافت هموزنه و لیزات سلولی استفاده می‌شود.

• 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 محلول‌ها:

محلول A: در کیت ۹۶ تستی به میزان ۱۰ میلی لیتر (در کیت ۴۸ تستی ۵ میلی لیتر) از بافر رقیق کننده به ویال بافر A اضافه کرده و به خوبی مخلوط کنید.

محلول B: در کیت ۹۶ تستی به میزان ۵ میلی لیتر (در کیت ۴۸ تستی ۲/۵ میلی لیتر) از بافر C 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 آن‌ها 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 می‌باشد، 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 ۵۰۰ RPM و به مدت ۵ دقیقه 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 در صورتیکه در نهایت ROS OD از ۲ بیشتر باشد باید نمونه را بیشتر رقیق نمایید و اگر از ۱ کمتر باشد باید کمتر رقیق شود. از نمونه سوپرناتانت کشت سلول به دلیل داشتن معرف‌های 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 تست‌های استرس اکسیداتیو (میتوانید از کارمانیا پارس ژن تهیه کنید) یا 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 غوطه‌ور 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. برای هر نمونه ۲ چاهک الایزا در نظر بگیرید و به تمامی آن‌ها ۱۰ میکرولیتر از نمونه و ۴۰ میکرولیتر بافر رقیق کننده اضافه کنید. یک چاهک به عنوان بلانک نمونه و یک چاهک به عنوان ROS می‌باشد.
۳. به چاهک بلانک ۵ میکرولیتر از بافر B و ۵ میکرولیتر از بافر A اضافه کنید و به چاهک ROS به میزان ۵ میکرولیتر از بافر A اضافه کنید و با حرکت دادن پلیت به مدت ۱۰ ثانیه از مخلوط شدن محتوای چاهک‌ها مطمئن شوید و در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد به مدت ۱۰ دقیقه انکوبه کنید (دقت کنید به چاهک ROS نباید بافر B اضافه شود زیرا مهار کننده ROS می‌باشد).

۴. به میزان ۵۰ میکرولیتر سوبسترا به تمامی چاهک‌ها اضافه کنید و به مدت ۱۵ دقیقه بر روی شیکر (۲۰۰ RPM) انکوبه کنید.

۵. به میزان ۲۵ میکرولیتر بافر متوقف کننده اضافه کنید و بلافاصله در طول موج ۴۵۰ نانومتر اندازه‌گیری کنید.

محاسبات:

برای محاسبه میزان ROS (μM) جذب حاصل از چاهک ROS را از جذب بلانک نمونه کسر کرده و در عدد $24.858 / 24$ ضرب کنید.

$$\text{ROS } (\mu\text{M}) = (\text{Absorbance ROS} - \text{Absorbance Blank}) \times 24.858$$

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

دستورالعمل‌های ایمنی: محلول‌های 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.

کیت‌های مشابه در حیطه اکسیدان‌ها و آنتی اکسیدان‌ها 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 اندازه‌گیری توتال پروتئین
۹. کیت اندازه‌گیری فعالیت آرزیناز
۱۰. کیت بررسی میزان تیول آزاد
۱۱. کیت بررسی میزان فعالیت GPX
۱۲. کیت بررسی میزان فعالیت همزمان میلوپراکسیداز و ROS
۱۳. کیت اندازه‌گیری میزان فعالیت میلوپراکسیداز

کارمانیا پارس ژن تولید کننده کیت‌های:

۱. الایزا برای اندازه‌گیری سایتوکین‌ها
۲. استخراج DNA و RNA به روش‌های ستونی، رسوبی و نانوذرات مگنت
۳. اندازه‌گیری miRNAها
۴. محصولات مرتبط با کشت سلول مانند FBS، محیط کشت و سلول‌های سرطانی و بنیادی مزانشیمال
۵. میکروتیوب‌ها دستگاه‌های Real-Time PCR
۶. ستون‌های تخلیص DNA و RNA
۷. محصولات یکبار مصرف آزمایشگاهی مانند ستون

با ما در تماس باشید

WWW.KARMANIAPARSGEN.IR-۰۹۱۳۲۹۲۶۱۱۳