

کیت اندازه گیری نیتریک اکساید NO Assav Kit (Catalog Nos. KPG-Nob)

• محتویات کیت:

- ۱. محلول A (CN. KPG-NOa)
- ۲. محلول B (CN. KPG-NOb): ۲ عدد
- ۳. محلول C (CN. KPG-NOc)
- ۴. محلول D (CN. KPG-NO): ۲ عدد
- ۵. محلول E (CN. KPG-NOe)

موارد مورد نیاز که در کیت موجود نیست:

سمپلر و سر سمپلر، ۲. سانتریفیوژ، ۳. الیزا ریدر حاوی طول موج ۴۵۰ نانومتر

آماده سازی محلول ها:

در کیت ۹۶ تستی به میزان ۵ میلی لیتر (در کیت ۴۸ تستی به میزان ۲/۵ میلی لیتر) از محلول A را به هر ظرف محلول B اضافه کنید. از حل شدن محلول B در A کاملاً مطمئن شوید. دقت نمایید به دلیل عدم پایداری بلند مدت محلول B بعد از اضافه شدن محلول A، دو ظرف در کیت فراهم شده تا امکان استفاده برای دو مرتبه فراهم شود. بنابراین در صورت نیاز محلول B را آماده کنید. برای آماده سازی محلول D در کیت ۹۶ تستی به میزان ۵۰۰ میکرولیتر (در کیت ۴۸ تستی ۲۵۰ میکرولیتر) آب مقطر به هر ظرف D اضافه کنید و خوب مخلوط کنید. از حل شدن محلول D کاملاً مطمئن شوید. دقت نمایید به دلیل عدم پایداری بلند مدت محلول D بعد از اضافه شدن آب مقطر، دو ظرف در کیت فراهم شده تا امکان استفاده برای دو مرتبه فراهم شود. بنابراین در صورت نیاز محلول B را آماده کنید. ترکیب محلول A و B تا ۷۲ ساعت و محلول D بعد از اضافه شدن آب مقطر به مدت یک ساعت پایداری دارند.

آماده سازی نمونه: در مواردی که از سرم، پلاسما یا ادرار استفاده میکنید نیازی به رقیق سازی نمونه نیست اما در صورتیکه در نهایت میزان NO در نمونه زیاد باشد رنگ نهایی زیاد شده ($OD > 1$) و داده ها قابل اعتماد نمی باشند. بنابراین در این موارد باید نمونه رقیق شود (معمولاً $\frac{1}{2}$). در مواردی که نمونه بافت می باشد، ابتدا ۵۰ میلی گرم از بافت را در ۵۰۰ میکرولیتر بافر رقیق کننده کاملاً هموژن 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 ۱۰۰۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ کرده و در نهایت مایع رویی را برای انجام تست به میزان یک پنجم با بافر رقیق کننده رقیق کرده (مثلاً ۲۰ میکرولیتر نمونه با ۸۰ میکرولیتر بافر رقیق کننده) و سپس در تست استفاده کنید. دقت نمایید در صورتیکه در نهایت میزان رنگ محسوس نباشد ($OD < 0.3$) میزان رقت را باید کم کرد. از نمونه سوپرناونت 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.

آماده سازی محلول استاندارد:

برای آماده سازی محلول استاندارد به نسبت ۱/۱ از محلول D و C را با یکدیگر مخلوط کنید. به طور مثال برای هر بار آزمایش ۱۰۰ میکرولیتر از محلول D و ۱۰۰ میکرولیتر از محلول C را با هم مخلوط کنید.

روش انجام تست:

قبل از شروع آزمایش، اجزای کیت را به مدت ۲۰ دقیقه در دمای اتاق نگه دارید. برای ساخت استاندارد با رقت های ۱۰۰، ۵۰، ۲۵، ۱۲/۵ و ۶/۲۵ میکرومول به میکروتیب های استاندارد ۱ تا ۵ به ترتیب به میزان ۳۰، ۱۵، ۷/۵، ۳/۷۵ و ۱/۸۵ میکرولیتر از مخلوط آماده شده اضافه نمایید.

به تمامی میکروتیوب ها از جمله استاندارد، بلانک و نمونه ها به میزان ۱۰۰ میکرولیتر از مخلوط محلول های A و B اضافه نمایید (مطابق جدول زیر).

به میکروتیوب مربوط به نمونه ها به میزان ۳۰ میکرولیتر نمونه و به بلانک ۳۰ میکرولیتر آب مقطر اضافه نمایید (مطابق جدول زیر).

نمونه	St1	St2	St3	St4	St5	بلانک
مخلوط محلول A و B	100 μ L	100 μ L	100 μ L	100 μ L	100 μ L	100 μ L
محلول آماده استاندارد	-	30 μ L	15 μ L	7.5 μ L	3.75 μ L	1.85 μ L
نمونه	30 μ L	-	-	-	-	-
آب مقطر	-	-	-	-	-	30 μ L

میکروتیوب ها را به شدت مخلوط کرده و به مدت ۱۰ دقیقه در دمای محیط و در محل تاریک انکوبه کنید.

به میزان ۱۵۰ میکرولیتر از محلول E به تمامی میکروتیوب ها اضافه و مخلوط کنید. ۱۵۰ میکرولیتر از استاندارد ها، بلانک و نمونه ها به چاهک های الیزا اضافه کنید و بلافاصله در طول موج ۴۵۰ نانومتر اندازه گیری کنید. در نهایت مقادیر به دست آمده را به صورت میکرومول در میلی لیتر (μ mol/mL) گزارش کنید.

در صورتیکه پروتئین تام (Total protein) را نیز اندازه گیری کرده اید (پیشنهاد ما استفاده از کیت بررسی توتال پروتئین کارمانیا پارس ژن است)، مقادیر به دست آمده را بر میزان پروتئین تام (mg/mL) تقسیم کرده و به صورت میکرومول بر میلی گرم پروتئین (μ mol/mg) گزارش کنید.

دستورالعمل های ایمنی: محلول های مورد استفاده در این کیت برای بافت انسان خطرناک هستند، از این رو حتماً با دستکش و گان کار کنید و در موارد تماس با پوست، چشم و غیره، با آب فراوان شسته و برای درمان اضافی به بیمارستان مراجعه کنید.

کیت های مشابه در حیطه اکسیدان ها و آنتی اکسیدان ها تولیدی کارمانیا پارس ژن:

کیت بررسی فعالیت تام آنتی اکسیدانی (FRAP)

کیت بررسی فعالیت کاتالاز

کیت بررسی فعالیت MDA

کیت بررسی میزان NO

کیت بررسی فعالیت پاراکسوناز-۱

کیت بررسی میزان استیل کولین استراز

کیت بررسی فعالیت SOD

کیت اندازه گیری توتال پروتئین

کیت بررسی فعالیت همزمان میلوپراکسیداز و میزان ROS

کیت سنجش میزان فعالیت گلوکاتایون پراکسیداز (GPX)

کیت بررسی میزان فعالیت آرزیناز

کیت اندازه گیری فعالیت پراکسیردوکسین ها

کارمانیا پارس ژن تولید کننده کیت های:

الایزا برای اندازه گیری ساینوکین ها

استخراج DNA و RNA به روش های ستونی، رسوبی و نانوذرات مگنت

اندازه گیری miRNAها

محصولات مرتبط با کشت سلول مانند FBS، محیط کشت و سلول های

سرطانی و بنیادی مزانشیما

میکروتیوب ها دستگاه های Real-Time PCR

ستون های تخلیص DNA و RNA

آنزیم های مولکولی از قبیل Klen-Taq DNA Polymerase، Reverse

Transcriptase و پروتئیناز K

نانوذرات آهن برای تخلیص DNA/RNA و پروتئین

با ما در تماس باشید

۰۹۱۳۲۹۲۶۱۱۳

WWW.KARMANIAPARSGEN.IR



NO Assay Kit (Catalog Nos. KPG-Nob)

Contents of the kit:

1. Solution A (CN. KPG-NOa)
2. Solution B (CN. KPG-NOb)
3. Solution C (CN. KPG-NOc)
4. Solution D (CN. KPG-Nod)
5. Solution E (CN. KPG-NOe)

Required items that are not included in the kit:

1. Sampler and sampler head, 2. Centrifuge, 3. ELISA reader containing 450 nm wavelength

Preparation of solutions:

In 96 tests kit, add 10 mL (in 48 tests kit add 5 mL) solution A to solution B.

To prepare solution D, in 96 tests kit add one mL (in 48 tests kit add 500 microliter) of distilled water to the vial and mix well.

The combination of solution A and B is stable for up to 72 hours and solution D is stable for one hour after adding distilled water.

Sample preparation: In cases where serum, plasma, or urine is used, there is no need to dilute the sample; however, if the final NO level in the sample is high, the final color intensity increases ($OD > 1$) and the data are not reliable. Therefore, in such cases, the sample must be diluted (usually 1/2). In cases where the sample is tissue, first homogenize 50 mg of tissue thoroughly in 500 microliters of dilution buffer (this should be done at cold temperature; for example, chill the dilution buffer by incubating it in the refrigerator for one hour), then centrifuge at 10,000 RPM for 10 minutes, and finally dilute the supernatant one-fifth with dilution buffer (e.g., 20 microliters of sample with 80 microliters of dilution buffer) and then use it in the assay. Note that if the final color intensity is not noticeable ($OD < 0.3$), the dilution factor should be reduced. Do not use cell culture supernatant samples because they contain pH-sensitive-colored reagents; instead, the cell sample must first be collected from the medium, then washed with PBS, then thoroughly lysed in RIPA buffer specific for oxidative stress assays (you can obtain it from Karmania Pars Gene), and the cell lysate should be centrifuged and the supernatant used for the assay. Note that if you do not have a sonicator, freeze and thaw the cell sample immersed in RIPA buffer 10 times and mix vigorously each time.

Preparation of standard solution:

To prepare the standard solution, mix D and C in a ratio of 1/1. For example, mix 100 μ L of solution D and 100 μ L of solution C for each test.

Protocol:

1. Keep the kit components at room temperature for 20 minutes before starting the test.
2. To make a standard with dilutions of 100, 50, 25, 12.5 and 6.25 micromol, add 30, 15, 7.5, 3.75 and 1.85 microliters of the prepared mixture to standard microtubes 1 to 5, respectively.
3. Add 100 microliters of the mixture of solutions A and B to all the microtubes, including the standard, blank, and samples (according to the table below).
4. Add 30 microliters of sample to the microtube corresponding to the samples and 30 microliters of distilled water (DW) to the blank (according to the table below).

	S1	S2	S3	S4	S5	Sample	DW
A and B mix	100 μ L	100 μ L	100 μ L	100 μ L	100 μ L	100 μ L	100 μ L
Prepared standard	30 μ L	15 μ L	7.5 μ L	3.75 μ L	1.85 μ L	-	-
Test	-	-	-	-	-	30 μ L	-
Blank	-	-	-	-	-	-	30 μ L

5. Mix the microtubes vigorously and incubate for 10 minutes at room temperature in the dark.
6. Add 150 microliters of solution E to all microtubes and mix.
7. Add 150 μ L of standards, blanks, and samples to ELISA wells and immediately read at 450 nm. Finally, report the obtained values as micromoles per milliliter (μ mol/mL).

If you have also measured the total protein (we recommend using the Karmania Pars Gene Total Protein Assay Kit), divide the obtained values by the total protein amount and report them as micromoles per milligram of protein (μ mol/mg).

Safety instructions: The solutions used in this kit are dangerous for human tissue, so be sure to work with gloves and gloves, and in case of contact with skin, eyes, etc., wash with plenty of water and go to the hospital for additional treatment.

Similar kits in the field of oxidants and antioxidants produced by Karmania Pars Gene:

Total Antioxidant Capacity (FRAP) Assay Kit
Catalase Activity Assay Kit
MDA Assay Kit
Nitric Oxide (NO) Assay Kit
Paraoxonase-1 Activity Assay Kit
Acetylcholinesterase Activity Assay Kit
Superoxide Dismutase (SOD) Activity Assay Kit
Total Protein Assay Kit
Combined Myeloperoxidase (MPO) and ROS Assay Kit
Glutathione Peroxidase (GPX) Activity Assay Kit
Arginase Activity Assay Kit
Peroxiredoxin Activity Assay Kit
Karmania Pars Gene, manufacturer of:
ELISA Kits for cytokine measurement
DNA and RNA Extraction Kits (column-based, precipitation, and magnetic nanoparticle methods)
miRNA Measurement Kits
Cell Culture-related products (such as FBS, culture media, cancer cell lines, and mesenchymal stem cells)
Microtubes and Real-Time PCR devices
DNA and RNA Purification Columns
Molecular enzymes (such as Klen-Taq DNA Polymerase, Reverse Transcriptase, and Proteinase K)
Iron Nanoparticles for DNA/RNA and Protein purification

Contact us
00989132926113-00982191692296
karmaniaparsgene@gmail.com
WWW.KARMANIAPARSGEN.IR