biorexfars

SUPEROXIDE DISMUTASE

PRODUCT CODE : BXC0531

BXC0531A
R1:5x20ml , R2:2x50ml , R3:3x10ml, R5:2x125ml
در دمای ۲ تا ۸ درجه سانتیگراد نگهداری شود.
دستورالعمل استفاده محصول
For R&D use only

بایرکس فارس

سوپر اکسید دیسموتاز

کد محصول : BXC0531

سوپر اکسید دیسموتاز

Kit Contents:	BXC0531A
R1 Mixed Substrate	5 x 20 ml
R2 Buffer	2 x 50 ml
R3 Xanthine Oxidase	3 x 10 ml
R4 Standard	3 x 10 ml
R5 Sample Diluent	2 x 125 ml
Control	1 x 1 ml

موارد مصرف:

تعیین کمی آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (SOD) در خون کامل.

مقدمه :

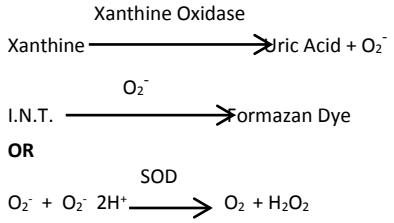
آنتی اکسیدان ها، ویتامین ها، املاح معدنی و آنزیم هایی هستند که سلول ها و بافت های بدن را در برابر اثرات زیان بار مولکول های سمی به نام رادیکال های آزاد محافظت می کنند. رادیکال های آزاد، مولکول هایی هستند که آخرین لایه الکترون آن ها تکمیل نبوده و به همین دلیل به لحاظ شیمیایی فعال تر از دیگر مولکول ها هستند. آنتی اکسیدان ها در برخی از مواد غذایی خاص مانند غذاهایی که حاوی ویتامین C، A و E و مواد معدنی مثل مس، روی و سلنیوم هستند، وجود دارد. سیستم آنتی اکسیدانی سلول زنده شامل سطوح مختلف دفاعی می باشد که در مهم ترین و اولین سد دفاعی سیستم پیشگیری از تشکیل رادیکال های آزاد انجام می گیرد و از ۳ آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، گلوتاتیون پراکسیداز (GPX) و کاتالاز تشکیل می شود.

روش:

(XANTHINE) Enzymatic

اساس آزمایش :

در این روش از گزانتین و گزانتین اکسیداز (XOD) برای تولید رادیکال های سوپراکسید استفاده می شود که این رادیکال‌ها با ترکیب 2-(4-iodophenyl)-3-(4-nitrophenol)-5-phenyltetrazolium chloride (I.N.T.) واکنش داده و فورمازان قرمز رنگ تولید می‌شود. سپس فعالیت سوپراکسید دیسموتاز بوسیله درجه مهار این واکنش اندازه گیری می شود. یک واحد SOD باعث مهار ۵۰٪ از سرعت احیاء INT تحت شرایط آزمایش می‌شود.



غلظت معرف ها:

R1	Xanthine	0.05 mmol/l
	I.N.T	0.025 mmol/l
R2	CAPs	
	EDTA	0.94 mmol/l
R3	80 U/l	
R5	Phosphate Buffer pH 7.0	0.01 mol/l

شرایط نگهداری و آماده سازی محلول ها:

۱) **Mixed Substrate (R1)**: محتویات یک ویال از سوبسترا (R1) ، با ۲۰ میلی‌لیتر از بافر (R2) مخلوط شود. این محلول به مدت ۱۰ روز در دمای ۲ تا ۸ درجه سانتیگراد پایدار است.

۲) **Buffer (R2)**: محتویات آماده مصرف می باشد و تا تاریخ انقضاء در دمای ۲ تا ۸ درجه سانتیگراد پایدار می‌باشد.

۳) **Xanthine oxidase (R3)**: محتویات یک ویال از (R3) با ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر مخلوط شود. این محلول به مدت ۱۴ روز در دمای ۲ تا ۸ درجه سانتیگراد پایدار است.

۴) **Standard (R4)**: محتویات یک ویال از استاندارد (R4) با ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر مخلوط شود. رقت های پشت سر هم از این استاندارد باید با رقیق کننده نمونه (R5) تهیه شود. برای تهیه منحنی استاندارد، رقت های زیر، از استاندارد S6 ساخته شود.

استاندارد	حجم استاندارد	حجم رقیق کننده نمونه (Sample Diluent)
S6	استاندارد رقیق نشده	---
S5	۵ میلی لیتر از استاندارد ۶	۵ میلی لیتر
S4	۵ میلی لیتر از استاندارد ۵	۵ میلی لیتر
S3	۵ میلی لیتر از استاندارد ۴	۵ میلی لیتر
S2	۵ میلی لیتر از استاندارد ۳	۶ میلی لیتر
S1	----	۵ میلی لیتر

استانداردهای رقیق شده تا ۱۴ روز در دمای ۸-۲ درجه سانتیگراد پایدار می باشد.

۵) **Sample Diluent (R5)**: محتویات آماده مصرف می باشد و تا تاریخ انقضاء در دمای ۲ تا ۸ درجه سانتیگراد پایدار است.

نمونه و پایداری نمونه ها:

خون تام همراه با EDTA یا هپارین.

جهت آماده سازی نمونه در ابتدا ۰/۵ میلی لیتر از خون تام به مدت ۱۰ دقیقه در ۳۰۰۰ rpm سانتریفیوژ شده و پلاسما جدا شود. سپس گلبول های باقی مانده با مقدار ۳ میلی لیتر از محلول سالین ۰/۹٪ به مدت ۱۰ دقیقه در۳۰۰۰ rpm در هر مرتبه شسته شود (این کار را ۴ مرتبه تکرار کنید). بعد از آن گلبول های شسته شده باقی مانده را با اضافه کردن آب مقطر سرد به حجم ۲ میلی لیتر برسانید و بعد از مخلوط کردن به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی گراد قرار دهید. محلول فوق را با رقیق کننده نمونه (R5) رقیق کنید. برای نمونه های انسانی، محلول فوق ۲۵ برابر رقیق شود (فاکتور رقت نهایی = ۱۰۰) و برای نمونه های گاوی ۵۰ برابر رقیق شود (فاکتور رقت نهایی= ۲۰۰).

روش انجام آزمایش:

طول موج	دما	کووت	اندازه گیری
۵۰۵ نانومتر	۳۷ درجه سانتیگراد	یک سانتیمتر	در مقابل بلانک معرف

مواد به صورت زیر به داخل لوله‌های آزمایش اضافه شود :			
	Sample Diluent (S1)	Standards S2-S6	Diluted Sample
Diluted Sample	---	---	50 ul
Standard	---	50 ul	---
Sample Diluent	50 ul	---	---
Mixed Substrate	1.7 ml	1.7 ml	1.7 ml
مخلوط کرده و سپس اضافه شود؛			
Xanthine Oxidase	500 ul	500 ul	500 ul
پس از مخلوط نمودن، مقدار جذب نوری را بعد از ۳۰ ثانیه قرائت نموده، و بعد از ۳ دقیقه مجدداً جذب نوری خوانده شود.			

نکته: توصیه می شود آزمایش فوق به صورت دستی انجام شود.

کارخانه : شیراز تلفن : ۰۷۱-۳۷۱۷۵۱۲۶ فاکس : ۰۷۱- ۳۷۱۷۵۱۲۷

ایمیل : info@biorexfars.ir

biorexfars

SUPEROXIDE DISMUTASE

PRODUCT CODE : BXC0531

BXC0531A
R1:5x20ml , R2:2x50ml , R3:3x10ml, R5:2x125ml
در دمای ۲ تا ۸ درجه سانتیگراد نگهداری شود.
دستورالعمل استفاده محصول
For R&D use only

بایرکس فارس

سوپر اکسید دیسموتاز

کد محصول : BXC0531

محاسبات:

در آزمایش فوق مقدار آنزیم SOD رابطه مستقیمی با درصد مهار کنندگی دارد.

$$\text{اختلاف جذب نمونه یا استاندارد} = \frac{A2 - A1}{3}$$

محاسبه مقدار SOD :

در این روش می بایست برای همه استانداردها درصد مهار محاسبه شده و منحنی استاندارد رسم شود. (محور افقی = میزان آنزیم و محور عمودی = درصد مهارکنندگی) و با بدست آوردن درصد مهار برای نمونه، از روی نمودار مقدار آنزیم SOD(SOD units/ml) محاسبه شود.

۱۰۰٪ = نسبت واکنش مهار نشده =(S1)رقیق کننده نمونه

۰٪ = (S1) درصد مهارکنندگی

$$\text{درصد مهارشدگی استاندارد}(\%\ \text{inhibition}) = 100 - (\frac{\text{اختلاف جذب استاندارد} \times 100)}{\text{اختلاف جذب } s1})$$

$$\text{درصد مهارشدگی نمونه}(\%\ \text{inhibition}) = 100 - (\frac{\text{اختلاف جذب نمونه} \times 100}{\text{اختلاف جذب } s1})$$

بعد از بدست آوردن میزان آنزیم SOD (SOD units/ml) با استفاده از منحنی استاندارد و درصد مهارکنندگی، نتیجه را در فاکتوررقت مناسب ضرب کرده تا جواب نهایی بدست آید.

$$\text{SOD(units/g)Heamoglobin} = \frac{\text{SOD units/mL}}{\text{g Heamoglobin}}$$

خطی بودن:

نمونه ها می بایست برای رسیدن به درصد مهارکنندگی ۶۰٪-۳۰٪ رقیق شوند.

حساسیت:

حداقل مقدار SOD قابل اندازه گیری ۰/۱ U/ml می باشد.

دقت:

تکرار پذیری با استفاده از نمونه‌های انسانی (n =۲۰) تعیین و نتایج زیر بدست آمد؛

	Intra Assay – Within Run		
Sample	Mean (U/ml)	SD (U/ml)	CV%
Control 1	110	3.6	3.27
Control 2	186	7.5	4.03
Control 3	260	8.1	3.11

	Inter Assay – Between Run		
Sample	Mean (U/ml)	SD (U/ml)	CV%
Control 1	118	4.1	3.47
Control 2	195	8.0	4.10
Control 3	267	9.2	3.44

مقادیر نرمال:

164-240 U/ml
این مقادیر تنها به عنوان راهنما می‌باشند، توصیه می‌شود هر آزمایشگاه مقادیر مرجع خود را تعیین نماید.

مقایسه روش ها:

در مقایسه انجام شده جهت ارزیابی کیت SOD بایرکس فارس (Y) با کیت رایج تجاری (X) ، نتایج زیر بدست آمد:

Y = 0.982(X) + 9.8 U/ml; r= 0.98

استفاده در دستگاه اتوماتیک :

این معرف برای استفاده طیف وسیعی از دستگاه های سنجش اتوماتیک مناسب می باشد. دستورالعمل های خاصی برای کاربرد های مختلف در بخش فنی شرکت بایرکس فارس موجود می باشد.

Biorexfars SOD Standard Cat No BXC0531A

کنترل کیفیت :

برای بررسی عملکرد صحیح معرف ها و هر نوع وسیله ای که برای اندازه گیری در این روش استفاده شده، توصیه می‌شود که از سرم کنترل‌های نرمال و غیر نرمال به منظور تایید صحت این روش استفاده نمایید. نتایج بدست آمده باید در محدوده مقادیر مشخص شده قرار گیرد .

Biorexfars SOD Control Cat No BXC0433A

مواد کنترل کیفی بایرکس فارس، از نظر عدم آلودگی به HBsAg ، آنتی بادی HIV نوع (۱ و ۲) و آنتی بادی HCV در نمونه انسانی بررسی شده و نتایج منفی گزارش شده است. اگر چه هیچ آزمایشی نمی تواند به طور کامل نبود بیماری های عفونی را تضمین کند، بنابراین باید با همه مواد همانند مواد آلوده رفتار شود. اگر نتایج خارج از محدوده قابل قبول باشند،باید اعمال مناسبی با توجه به روش های کیفی داخل آزمایشگاه صورت پذیرد.

بهداشت و ایمنی:

این کیت صرفا برای استفاده توسط پرسنل واجد شرایط آزمایشگاه طراحی شده است. در هنگام کار با معرف های آزمایشگاهی، رعایت کردن اقدامات احتیاطی مورد نیاز ضروری می‌باشد. این معرف ها غیر قابل خوردن و نوشیدن می‌باشند. در مورد چگونگی دور ریختن مواد طبق قوانین تدوین شده عمل شود.

منابع:

Arthur J.R. ; Boyne R. (1985) 36: 1569-1575.
Suttle N.F. (1986) 119: 519-522.
Wooliams J.A. et al (1983) 34: 253-256.

IVD	For In Vitro Diagnostics Use Only
LOT	Lot Number
REF	Catalogue Number
	Storage Temperature
	Expiry Date (Year / Month)
	Warning, Read Enclosed Documents
	Instructions For Use
	Manufactured By

کارخانه : شیراز تلفن : ۳۷۱۷۵۱۲۶-۰۷۱ فاکس : ۳۷۱۷۵۱۲۷- ۰۷۱

ایمیل : info@biorexfars.ir