

کیت اندازه گیری فعالیت تام آنتی اکسیدانی به روش ABTS

ABTS Antioxidant assay kit Catalog Nos. KPG-ABTS

در دنیای امروز، استرس اکسیداتیو به عنوان یکی از عوامل اصلی در بروز و پیشرفت بسیاری از بیماری‌های مزمن از جمله سرطان، بیماری‌های قلبی عروقی، دیابت، اختلالات نورودژنراتیو و همچنین فرآیند پیری شناخته می‌شود. این استرس در نتیجه عدم تعادل بین تولید گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) و دفاع آنتی‌اکسیدانی بدن ایجاد می‌گردد. آنتی‌اکسیدان‌ها با خنثی کردن رادیکال‌های آزاد و گونه‌های فعال اکسیژن، نقش حیاتی در حفاظت از سلول‌ها در برابر آسیب‌های اکسیداتیو ایفا می‌کنند. از این رو، اندازه‌گیری دقیق و کمی ظرفیت آنتی‌اکسیدانی نمونه‌های بیولوژیکی، غذایی، دارویی و گیاهی به یک نیاز اساسی در تحقیقات علوم زیستی، کنترل کیفیت مواد غذایی و صنایع داروسازی تبدیل شده است. در میان روش‌های متعدد سنجش فعالیت آنتی‌اکسیدانی، روش ABTS به دلیل سادگی، سرعت، دقت و تکرارپذیری بالا، به یکی از پرکاربردترین و معتبرترین روش‌ها در سراسر جهان تبدیل شده است. اساس این روش، مهار رادیکال کاتیون ABTS است که دارای رنگ آبی/سبز مشخص با جذب نوری در طول موج ۷۳۴ نانومتر می‌باشد. در کیت کارمانیا پارس ژن، ابتدا رادیکال کاتیون پایدار ABTS در شرایط آزمایشگاهی تولید می‌شود، سپس این رادیکال رنگی با آنتی‌اکسیدان‌های موجود در نمونه واکنش داده و احیا می‌شوند که موجب کاهش رنگ آبی/سبز ناشی از کاتیون ABTS می‌گردد. میزان کاهش در جذب نوری مستقیماً با غلظت و قدرت آنتی‌اکسیدان‌های موجود در نمونه مرتبط است. کیت ABTS کارمانیا پارس ژن قابلیت اندازه‌گیری طیف وسیعی از آنتی‌اکسیدان‌ها اعم از محلول در آب (مانند ویتامین C، اسیدهای فنولیک) و محلول در چربی (مانند ویتامین E، کاروتنوئیدها) را دارد و به عنوان معیاری از ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام (TAC) نمونه محسوب می‌شود.

محتویات کیت:

۱. محلول A (ABTS Solution) (CN. KPG-ABTSKP)
۲. محلول B (ABTS Solution B) (CN. KPG-ABTS)
۳. بافر رقیق کننده (ABTS Reagent Buffer) (CN. KPG-PB0/17.4)
۴. استاندارد (ABTS Standard) (CN. KPG-ABTSST)
۵. پلیت الایزا

موارد مورد نیاز که در کیت موجود نیست:: سمپلر و سر سمپلر، سانتیفریوژ، الایزا ریدر حاوی طول موج ۷۳۴ نانومتر، آب مقطر

آماده سازی محلول‌ها:

- برای آماده سازی محلول A، در کیت ۹۶ تستی به میزان ۱۰ میلی لیتر (در کیت ۴۸ تستی هم به میزان ۱۰ میلی لیتر) از آب مقطر را به محتویات بطری اضافه کرده و به خوبی مخلوط کنید.
- برای آماده سازی محلول B، در کیت ۹۶ تستی به میزان ۵ میلی لیتر (در کیت ۴۸ تستی به میزان ۲/۵ میلی لیتر) از بافر رقیق کننده را به محتویات بطری اضافه کرده و به خوبی مخلوط کنید.

معرف های تهیه شده به مدت یک هفته و در دمای یخچال پایدار می باشد.

آماده سازی معرف ABTS:

برای آماده سازی معرف ABTS، به میزان مساوی از محلول A را با محلول B مخلوط کرده و در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد به مدت یک ساعت انگوبه کنید تا کاتیون پایدار ABTS ایجاد شود (رنگ سبز / آبی). معرف ABTS به مدت ۱ ساعت در دمای محیط پایدار است.

آماده سازی استاندارد: برای آماده سازی استاندارد، به میزان ۵ میلی لیتر آب مقطر به ویال استاندارد اضافه کنید. در این حالت استاندارد شما در غلظت ۲۵۰۰ میکرو مول بر لیتر از آنتی اکسیدان آماده می شود و به عنوان استاندارد شماره یک کیت به حساب می آید. برای ساخت استاندارد های بعدی طبق جدول زیر عمل کنید:

Std	غلظت	آب مقطر	استاندارد شماره ۱	OD مورد انتظار
1	2500 µM/L	0 µL	500 µL	۰/۰۰۵-۰/۰۷
2	833 µM/L	200 µL	100 µL	۰/۴-۰/۵
3	277 µM/L	300 µL	33 µL	۰/۵-۰/۹
4	92.5 µM/L	300 µL	11 µL	۰/۷-۰/۹
Blank	0 µM/L	300 µL	0 µL	۰/۸-۱/۱

استاندارد ها به مدت ۲۴ ساعت و در دمای یخچال و یک هفته در دمای ۲۰- درجه سانتیگراد پایدار می باشد.

آماده سازی نمونه: نمونه سرم، پلاسما، و ادرار نیاز به آماده سازی ندارد و مستقیماً استفاده می شود. برای آماده سازی نمونه بافت، ابتدا ۲۵ میلی گرم از بافت را در ۵۰۰ میکرولیتر بافر رقیق کننده هموژن کرده، سپس در دور RPM ۱۱۰۰۰ به مدت ۳ دقیقه سانتیفریوژ کرده و مایع رونی را با احتیاط و با سمپلر جدا کرده و در تست استفاده کنید. دقت نمایید در مواردی که میزان جذب ABTS در نمونه هموژن شده از بالاترین استاندارد (استاندارد شماره یک) هم کمتر باشد، باید نمونه با بافر رقیق کننده به نسبت های یک دوم و یا یک سوم رقیق شود. بنابراین قبل از انجام تست حتماً با یک نمونه تعیین رقت کنید. 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 رپیا مخصوص تست های استرس اکسیداتیو (میتوانید از کارمانیا پارس ژن تهیه کنید) با دستگاه سونیکاتور کاملاً لیز کرده و لیزات سلول را سانتیفریوژ کرده و از سوپرناونت برای تست استفاده کنید. دقت نمایید، درصورتیکه دستگاه سونیکاتور ندارید، نمونه سلول غوطه ور شده در بافر رپیا را به تعداد ۱۰ مرتبه فریز و ذوب کنید و در هر بار به شدت مخلوط کنید.

روش انجام تست:

۱. به چاهک های الایزا (پلیت آماده در کیت) به میزان ۱۰۰ میکرولیتر معرف ABTS اضافه کنید. برای این منظور برای استاندارد ها چهار چاهک، یک چاهک برای بلانک و به تعداد نمونه ها نیز تعداد چاهک مناسب در نظر بگیرید.
 ۲. به میزان ۵ میکرولیتر از استاندارد ها و نمونه به چاهک های مربوطه اضافه کرده و به مدت ۲ دقیقه در تاریکی و در دمای محیط انکوبه کنید. به چاهک بلانک هیچ موردی اضافه نکنید.
 ۳. میزان جذب را در طول موج ۷۳۴ نانومتر مورد اندازه گیری قرار دهید و با استفاده از نمودار استاندارد میزان غلظت آنتی اکسیدان ها را به صورت میکرومول بر لیتر (و یا اینکه این عدد را بر ۱۰۰۰ تقسیم کرده و به صورت میکرومول بر میلی لیتر) گزارش کنید.
 ۴. در صورتیکه میزان پروتئین توتال را نیز اندازه گیری کرده اید (پیشنهاد ما استفاده از کیت اندازه گیری پروتئین توتال به روش BCA ساخت کارمانیا پارس ژن است)، عدد به دست آمده به صورت میکرومول بر میلی لیتر را بر میزان پروتئین تام (میکروگرم بر میلی لیتر) تقسیم کرده و داده ها را به صورت میکرومول بر میکروگرم گزارش کنید (µM/µg).
- دقت نمایید، درصورتیکه میزان رنگ نمونه از استاندارد اول نیز بیشتر کاهش یافت، نمونه ها را باید رقیق کرده و مجدداً تست را انجام داد و در نهایت ضریب رقت را در عدد به دست آمده ضرب کرد.

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, ABTS, DPPH, CUPRAC)
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 پراکسیدوکسین ها
۱۵. کیت سنجش فعالیت پراکسیداز شیر
۱۶. کیت سنجش فعالیت آلکالین فسفاتاز شیر
۱۷. کیت سنجش میزان GSSG (گلوکاتیون اکسید شده)
۱۸. کیت سنجش میزان واحدهای تیول آزاد (گلوکاتیون احیا)
۱۹. کیت سنجش فعالیت آرژیناز
۲۰. کیت سنجش میزان کربونیل پروتئین پراکسیداز شیر
۲۱. کیت سنجش میزان توتال اکسیدان ها (TOS)
۲۲. کیت اندازه گیری محصولات پروتئینی اکسید شده پیشرفته (AOPP)

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 lamiRNA
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
۷. سرمپلر های ۱۰ سانتی متری با و بدون فیلتر

با ما در تماس باشید

۰۳۴۳۴۲۰۸۰۲۵-۰۹۱۳۲۹۴۱۱۳

WWW.KARMANIAPARSGEN.IR