



کیت سنجش فعالیت آنزیم گلو تاتیون-S ترانسفراز

(GST)

آنزیم (GST) گلو تاتیون-S ترانسفراز) آنزیمی مهم در سمزدایی سلول است. این آنزیم با کاتالیز کردن اتصال گلو تاتیون به طیف وسیعی از ترکیبات سمی الکتروفیل، آنها را محلول در آب کرده و دفع را تسهیل میکند. این فرآیند نقش حیاتی در محافظت از DNA و پروتئینها در برابر آسیب اکسیداتیو دارد. فعالیت GST اغلب به عنوان یک نشانگر زیستی در مطالعات سم شناسی استفاده میشود. همچنین، بیان بیش از حد این آنزیم میتواند یکی از مکانیسمهای مقاومت به دارو در شیمی درمانی باشد. کیت سنجش فعالیت آنزیم گلو تاتیون S- ترانسفراز (GST) کارمانیا پارس ژن با استفاده از سوبسترای اصلی آنزیم GST و خوانش در طول موج ۳۴۰ نانومتر یک روش استاندارد و قابل اعتماد است. این روش مبتنی بر اندازه گیری جذب نوری محصول کوئوگه حاصل از عملکرد GST در این طول موج می باشد. ویژگی این کیت نیاز به مقادیر کم نمونه و تکرار پذیری بالای هر آزمون می باشد.

محتویات کیت:

۱. بافر رقیق کننده A (Buffer A) (KPG-GST10PET)
۲. بافر رقیق کننده B (Diluent Reagent B) (KPG-GSTPSS0/16.5)
۳. سوبسترا A (Substrate A) (KPG-GSTSUBCDN)
۴. سوبسترا B (Substrate B) (KPG-GSTSUBGSH)
۵. پلیت الایزا

موارد مورد نیاز که در کیت موجود نیست: سمپلر و سر سمپلر، ۲. الایزا ریدر حاوی طول موج ۳۴۰ نانومتر

آماده سازی محلول ها:

- برای آماده سازی سوبسترا A، در کیت ۹۶ تستی به میزان ۲ میلی لیتر (در کیت ۴۸ تستی ۱ میلی لیتر) از بافر رقیق کننده A را به ظرف سوبسترا A اضافه کرده و به خوبی مخلوط کنید. دقت کنید این ماده به خوبی حل نمی شود و برای حل شدن کامل به مدت ۵ دقیقه در دمای ۵۰ درجه سانتیگراد انکوبه کنید و سپس کاملا شدید مخلوط کنید. در انتها از حل شدن آن کاملا مطمئن شوید.
- برای آماده سازی سوبسترا B در کیت ۹۶ تستی به میزان ۲ میلی لیتر (در کیت ۴۸ تستی به میزان ۱ میلی لیتر) از بافر رقیق کننده B را به ظرف سوبسترا B اضافه کرده و به خوبی مخلوط کنید.

تمامی محلول ها بعد از آماده سازی ۷۲ ساعت در تاریکی و در دمای یخچال پایدار هستند.

آماده سازی نمونه:

در مواردی که از سرم، پلاسما یا ارادر استفاده میکنید نیازی به رقیق سازی نمونه نیست. در مواردی که نمونه بافت می باشد، ابتدا ۵۰ میلی گرم از بافت را در ۵۰۰ میکرولیتر بافر رقیق کننده کاملا 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 ۱۰۰۰۰ RPM 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 (مثلا ۲۰ میکرولیتر نمونه با ۸۰ میکرولیتر بافر رقیق کننده) و سپس در تست استفاده کنید. دقت نمایید در صورتیکه در نهایت میزان جذب محسوس نباشد (پایین تر از ۰/۲۵) میزان رقت را باید کم کرد). از نمونه سوپر نانت 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 کاملا لیز کرده و لیزات سلول را سانتریفیوژ کرده و از سوپر نانت 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.

روش انجام تست:

۱. قبل از شروع آزمایش مطمئن شوید تمام محلول ها دارای دمای محیطی باشند.
۲. ۱۷۰ میکرولیتر از بافر رقیق کننده B به چاهک های الایزا اضافه کنید. دقت کنید دو برابر تعداد نمونه ها به چاهک ها بافر رقیق کننده اضافه کرده (مثلا اگر ۸۰ نمونه دارید، به میزان ۱۷۰ میکرولیتر از بافر رقیق کننده به ۱۶۰ چاهک اضافه کنید، در واقع یک چاهک برای تست GST و دیگری برای بلانک نمونه).
۳. ۱۰ میکرولیتر نمونه به هر دو چاهک GST و بلانک نمونه اضافه کنید.
۴. ۲۰ میکرولیتر سوبسترا A و ۲۰ میکرولیتر سوبسترا B به چاهک GST مربوط به هر نمونه اضافه کنید (دقت کنید به چاهک بلانک نمونه نباید سوبسترا اضافه کرد).
۵. پلیت را به آرامی حرکت داده تا مواد مخلوط شوند و به مدت ۲ دقیقه در تاریکی انکوبه کرده و در ادامه در طول موج ۳۴۰ نانومتر خوانش کنید.

محاسبات: برای محاسبه فعالیت GST از فرمول زیر استفاده کنید:

$$GST \text{ Activity (U/mL)} = \frac{\Delta A340 \times \text{Total volume}}{\varepsilon \times d \times V \text{ sample}}$$

در این فرمول $\Delta A340$ به صورت زیر محاسبه می شود:

$$\Delta A340 = \frac{A_t - A_b}{t}$$

در این فرمول A_t میزان جذب نمونه در طول موج ۳۴۰ نانومتر و A_b جذب بلانک در این طول موج می باشد. با محاسبه اعداد و رقم های موجود فرمول نهایی به صورت زیر است:

$$GST \text{ Activity (U/mL)} = (A_t - A_b) \times 20$$

میزان طبیعی فعالیت GST در نمونه سرم بین ۰/۵ تا ۲ U/mL می باشد. برای محاسبه فعالیت ویژه بایستی میزان پروتئین تام نمونه را اندازه گیری کرد (پیشنهاد ما استفاده از کیت اندازه گیری پروتئین تام کارمانیا پارس ژن است) سپس از فرمول زیر استفاده کنید:

$$GST \text{ Activity (U/\mu g)} = \frac{GST \text{ Activity (U/mL)}}{Total \text{ Protein (\mu g/mL)}}$$

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 میلیپراکسیداز
۱۱. کیت سنجش مقادیر ROS
۱۲. کیت سنجش فعالیت همزمان ROS و میلیپراکسیداز
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 (گلو تاتیون اکسید شده)
۱۸. کیت سنجش میزان واحدهای تیول آزاد (گلو تاتیون احیا)
۱۹. کیت سنجش فعالیت آرزیناز
۲۰. کیت سنجش وضعیت آنتی اکسیدان ها با روش DPPH
۲۱. کیت سنجش میزان کربونیل پروتئین پراکسیداز شیر
۲۲. 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 مگنت
۳. اندازه گیری miRNA
۴. محصولات مرتبط با کشت سلول مانند FBS، محیط کشت و سلول های سرطانی و بنیادی مزانشیما
۵. میکروتیوب ها دستگاه های Real-Time PCR
۶. ستمن های تخلیص DNA و RNA

در صورت داشتن سول فنی با ما در تماس باشید

WWW.KARMANIAPARSGEN.IR.۰۹۱۳۲۹۲۶۱۱۳