



کیت اندازه گیری گروه های تیول

Tiol (GSH) Quantification Kit CN. KPG-THIOL

کیت اندازه گیری تیول به منظور تعیین مقدار تیول ها (گروه های سولفیدریل آزاد) در نمونه های بیولوژیکی طراحی شده است. تیول ها نقش کلیدی در ساختار و عملکرد پروتئین ها و آنزیم ها دارند و اندازه گیری دقیق آن ها برای درک واکنش های بیوشیمیایی، ارزیابی استرس اکسیداتیو و بررسی تغییرات ساختاری مولکول ها اهمیت دارد. این کیت بر اساس واکنش تیول ها با معرف رنگزا طراحی شده است که منجر به تولید رنگ در طول موج ۴۱۲ نانومتر می شود. با استفاده از این کیت شما قادر خواهید بود گروه های آزاد تیول را در سرم، مایعات بیولوژیک مانند بزاق و CSF، کشت سلول و انواع بافت ها اندازه گیری کنید.

محتویات کیت:

۱. بافر رقیق کننده (Diluent Reagent) (KPG-THIOLPBSS0/18)
۲. بافر رنگ زا (Dye Buffer) (KPG-DYNB10)
۳. پلیت الایزا

موارد مورد نیاز که در کیت موجود نیست: سمپلر و سر سمپلر، ۲. الایزا ریدر حاوی طول موج ۴۱۲ نانومتر

آماده سازی محلول ها: برای آماده سازی بافر رنگ زا در کیت ۹۶ تستی به میزان ۵ میلی لیتر (در کیت ۴۸ تستی ۲/۵) از بافر رقیق کننده را به ظرف بافر رنگ زا اضافه کرده و به خوبی مخلوط کنید. دقت کنید که پودر کاملاً حل شده باشد. برای این منظور حداقل ۵ دقیقه روی شیکر و در دور RPM ۲۰۰ مخلوط کنید.

این محلول بعد از آماده سازی ۷۲ ساعت در تاریکی پایدار می باشد.

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 گروه های آزاد تیول 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 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 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 سوپرناتانت 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.

روش انجام تست:

۱. قبل از شروع آزمایش مطمئن شوید تمام محلول ها دارای دمای محیطی باشند.
۲. ۳۰ میکرولیتر از بافر رقیق کننده به چاهک های الایزا اضافه کنید. دقت کنید به تعداد نمونه ها به چاهک ها بافر رقیق کننده اضافه کرده (مثلاً اگر ۸۰ نمونه دارید، به میزان ۳۰ میکرولیتر از بافر رقیق کننده به ۸۰ چاهک اضافه کنید) و یک چاهک را به عنوان بلانک در نظر گرفته و به آن ۵۰ میکرولیتر بافر رقیق کننده اضافه کنید.
۳. ۲۰ میکرولیتر نمونه به هر چاهک اضافه کنید (به بلانک نمونه اضافه نکنید).
۴. ۵۰ میکرولیتر از بافر رنگزا به تمامی چاهک ها (نمونه و بلانک) اضافه کنید.
۵. پلیت را به آرامی حرکت داده تا مواد مخلوط شوند و به مدت ۲ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد انکوبه کنید (دقت نمایید این دما برای ایجاد واکنش بهتر می باشد و ضروری نیست و می توان در دمای محیط انکوبه کرد) و در ادامه در طول موج ۴۱۲ نانومتر میزان جذب نمونه ها را اندازه گیری نمایید.

محاسبات: برای محاسبه فعالیت گروه های آزاد تیول از فرمول زیر استفاده کنید:

$$\text{Thiol Concentration } (\mu\text{M}) = \Delta A_{412} \times 353.35$$

در این فرمول عدد ثابت با محاسبه ضریب خاموشی، فاصله منبع تغذیه تا نمونه در پلیت الایزا و رقت نمونه محاسبه شده است و ΔA_{412} هم تفاوت جذب بلانک با نمونه میباشد:

$$\Delta A_{412}: \text{A Sample} - \text{A Blank}$$

در صورتیکه اقدام به اندازه گیری پروتئین توتال برای نرمال کردن داده های خود می کنید از فرمول زیر استفاده کنید:

$$\text{Normalized Thiol } (\mu\text{M}/\mu\text{g}) = \frac{\text{Thiol Concentration}}{P}$$

در این فرمول P به معنای میزان پروتئین بر حسب میکروگرم بر میلی لیتر می باشد. ما استفاده از کیت اندازه گیری پروتئین تام (توتال) ساخت کارمانیا پارس ژن را پیشنهاد می کنیم. برای سهولت محاسبه داده ها، فایل ایکسل طراحی شده توسط کمپانی KPG را از بارکد زیر دانلود کنید:



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 فعالیت SOD
۸. کیت اندازه گیری توتال پروتئین
۹. کیت بررسی فعالیت همزمان میلوپراکسیداز و میزان ROS
۱۰. کیت سنجش میزان فعالیت گلوکوتایون پراکسیداز (GPX)
۱۱. کیت بررسی میزان فعالیت آرژیناز

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 ها
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. ستون های تخلیص DNA و RNA
۷. آنزیم های مولکولی از قبیل Klen-Taq DNA Polymerase
۸. نانوذرات آهن برای تخلیص DNA/RNA و پروتئین

در صورت داشتن سول فنی با ما در تماس باشید

WWW.KARMANIAPARSGEN.IR-۰۹۱۳۲۹۲۶۱۱۳