

کیت اندازه گیری فلاوانوئید تام (Total Flavanoids)

CN. KPG-TFlav

این کیت بر اساس روش رنگ‌سنجی طراحی شده است. در این روش، یون‌های آلومینیوم با گروه‌های هیدروکسیل و کربونیل فعال در ساختار فلاوانوئیدها کمپلکس زرد رنگی تشکیل می‌دهند که در طول موج ۴۱۵ نانومتر دارای جذب مشخصی است. شدت رنگ ایجاد شده با محتوای فلاوانوئید نمونه رابطه مستقیم دارد و با استفاده از منحنی استاندارد کوئرستین قابل محاسبه است. برای دستیابی به نتایج دقیق‌تر در اندازه‌گیری ترکیبات خاص، توصیه می‌شود از روش‌های تکمیلی مانند HPLC نیز استفاده شود. این کیت برای مقایسه نسبی نمونه‌ها و غربالگری سریع ابزاری کارآمد و مقرون به‌صرفه است.

محتویات کیت:

۱. بافر رقیق کننده (Dilution buffer) (KPG-ET60)
 ۲. محلول A (Solution A Flv) (KPG-AICL)
 ۳. استاندارد (TFlav Standard) (KPG-FlvQ)
 ۴. آب مقطر (Distilled water) (KPG-DW)
 ۵. پلیت الایزا
- دقت نمایند تمامی محتوای کیت در دمای اتاق قابل نگهداری می‌باشند.
- موارد مورد نیاز:** سمپلر و سر سمپلر، الایزا ریدر حاوی طول موج ۴۱۵ نانومتر

آماده سازی محلول‌ها:

بافر رقیق کننده آماده به کار بوده و نیاز به آماده سازی ندارد.

برای آماده سازی محلول A ۱۵۰۰ میکرولیتر (۱/۵ میلی لیتر) از آب مقطر (در کیت ۴۸ تستی ۷۵۰ میکرولیتر) را به ظرف مربوطه اضافه کنید.

این بافر بعد از آماده سازی به مدت ۱ ماه در دمای محیط پایدار است.

آماده سازی استانداردها:

برای آماده سازی استاندارد به میزان ۲ میلی لیتر (در هر دو کیت ۹۶ و ۴۸ تستی) بافر رقیق کننده به ظرف استاندارد اضافه کنید و بخوبی مخلوط کنید تا غلظت ۵۰۰ میلی‌گرم معادل کوئرستین بر میلی لیتر (mg QE/mL) (استاندارد شماره ۱) از استاندارد آماده شود. در ادامه، طبق جدول زیر باقی استانداردها را آماده نمایید (استاندارد آماده شده در دمای یخچال به مدت یک هفته و در فریزر به مدت یک ماه پایدار است):

استاندارد شماره ۱	بافر رقیق کننده	غلظت	Std
250 µL	250 µL	250 mg QE/mL	2
125 µL	375 µL	125 mg QE/mL	3
62.5 µL	437.5 µL	62.5 mg QE/mL	4
31.25 µL	468 µL	31.25 mg QE/mL	5
15.62 µL	484.5 µL	15.62 mg QE/mL	6

آماده سازی نمونه:

تذکر مهم: نمونه‌ها باید بلافاصله پس از جمع‌آوری بررسی شوند یا در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری گردند. از تکرار سیکل‌های انجماد و ذوب خودداری کنید.

نمونه‌های بافت: در اغلب موارد از عصاره گیاه برای انجام تست استفاده می‌شود که باید رقت مناسب را قبل از انجام تست محاسبه کرد. در مواردی که بافت گیاه است، ۵۰ میلی‌گرم بافت را به خوبی نرم و پودر کرده و در ادامه در ۵۰۰ میکرولیتر بافر رقیق‌کننده مخلوط کرده و به مدت ۳۰ دقیقه بر روی شیکر به خوبی مخلوط کنید. سپس از کاغذ صافی واتمن عبور دهید و یا اینکه در دور rpm ۶۰۰۰ و به مدت ۳ دقیقه سانتریفیوژ کرده و از مایع رویی استفاده کنید. مایع به دست آمده را به نسبت یک پنجم (۲۰) میکرولیتر نمونه با ۸۰ میکرولیتر بافر رقیق کننده (Dilution buffer) رقیق کنید. دقت نمایید در صورتیکه نمونه با این رقت دارای OD بیش از ۱/۳ باشد، بایستی نمونه را بیشتر رقیق کرد. به همین منظور ابتدا تست تعیین رقت انجام داده و رقتی که دارای OD حدود ۱ است را مبنا قرار دهید. بنابراین حتماً قبل از انجام تست ها، بایستی رقت مناسب به دست بیاید.

روش انجام تست:

۱. برای هر نمونه دو چاهک در نظر بگیرید یکی به عنوان تست فلاوانوئیدها و دیگری به عنوان بلانک نمونه. در ادامه به چاهک تست فلاوانوئیدها به میزان ۱۵۰ میکرولیتر آب مقطر و به چاهک بلانک نمونه ۱۶۵ میکرولیتر آب مقطر اضافه کنید. برای هر استاندارد یک چاهک در نظر بگیرید و به آن‌ها به میزان ۱۵۰ میکرولیتر از آب مقطر اضافه نمایید و برای بلانک کیت نیز یک چاهک در نظر بگیرید و به آن ۲۰۰ میکرولیتر آب مقطر اضافه کنید.
۲. به چاهک نمونه تست فلاوانوئیدها (به بلانک نمونه نباید محلول A اضافه شود)، استاندارد ها و بلانک کیت ۱۵ میکرولیتر از محلول A اضافه کنید.
۳. به چاهک تست فلاوانوئیدها و بلانک نمونه به میزان ۵۰ میکرولیتر نمونه اضافه کنید و به چاهک های استاندارد ها به میزان ۵۰ میکرولیتر از هر استاندارد اضافه کنید و بعد از تکان دادن مختصر (برای مخلوط شدن محتوا)، به مدت پنج دقیقه در دمای محیط و در تاریکی انکوبه کنید و در ادامه در طول موج ۴۱۵ نانومتر خوانش کنید. دقت کنید اگر این طول موج را در اختیار ندارید از طول موج ۴۰۵ نانومتر استفاده کنید و اگر این مورد هم موجود نبود از طول موج ۴۵۰ نانومتر استفاده کنید.

چاهک استاندارد	چاهک بلانک نمونه	چاهک نمونه تست فلاوانوئید	چاهک بلانک کیت
۱۵۰ میکرولیتر	۱۶۵ میکرولیتر	۱۵۰ میکرولیتر	۲۰۰ میکرولیتر
۱۵ میکرولیتر	-	۱۵ میکرولیتر	۱۵ میکرولیتر
۵۰ میکرولیتر	-	-	-
-	۵۰ میکرولیتر	۵۰ میکرولیتر	-
۵ دقیقه	۵ دقیقه	۵ دقیقه	۵ دقیقه
+	+	+	+

برای گزارش نهایی بایستی مقادیر به دست آمده از نمودار را مطابق زیر آماده کرد:

غلظت بلانک کیت - (غلظت نمونه - غلظت بلانک نمونه) = غلظت نرمالایز شده نمونه (Normalized Concentration)

$$\text{Total Flavanoids (mg QE/g)} = \frac{\text{Normalized Concentration} \times V \times D}{M \times 1000}$$

در این فرمول V حجم کل عصاره است، D ضریب رقت نمونه، M وزن پودر گیاه که از آن عصاره گیری شده است و عدد ۱۰۰۰ برای تبدیل واحد میلی گرم به گرم است.

به طور مثال اگر غلظت نرمالایز شده نمونه (mg QE/g) ۶۶ شده و از ۱۰۰ میلی لیتر عصاره نمونه برداشت شده و به اندازه ۱۰ برابر رقیق شده و این عصاره از ۱ گرم پودر گیاه به دست آمده است، به صورت زیر محاسبه می‌شود:

$$\text{Total Flavanoids (mg QE/g)} = \frac{66 \times 100 \times 10}{1 \times 1000} = 66 \text{ (mg QE/g)}$$

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 میلوپراکسیداز
 ۱۱. کیت سنجش مقادیر ROS
 ۱۲. کیت سنجش فعالیت همزمان ROS و میلوپراکسیداز
 ۱۳. کیت سنجش فعالیت GPX
 ۱۴. کیت سنجش فعالیت پراکسیدروکسین ها
 ۱۵. کیت سنجش فعالیت پراکسیداز شیر
 ۱۶. کیت سنجش فعالیت آلتکالین فسفاتاز شیر
 ۱۷. کیت سنجش میزان GSSG (گلوتاتیون اکسید شده)
 ۱۸. کیت سنجش میزان واحدهای تیول آزاد (گلوتاتیون احیا)
 ۱۹. کیت سنجش فعالیت آرزیناز
 ۲۰. کیت سنجش وضعیت آنتی اکسیدان ها با روش DPPH
 ۲۱. کیت سنجش وضعیت آنتی اکسیدان ها با روش ABTS
 ۲۲. کیت سنجش وضعیت آنتی اکسیدان ها با روش CUPRAC
 ۲۳. کیت اندازه گیری محصولات پروتئینی اکسید شده پیشرفته (AOPP)
 ۲۴. کیت سنجش میزان کربونیل پروتئین پراکسیداز شیر
 ۲۵. کیت سنجش میزان توتال اکسیدان ها (TOS)
 ۲۶. کیت اندازه گیری فنل تام
 ۲۷. کیت اندازه گیری فعالیت تیروزیناز
- 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 lamiRNA
 ۴. محصولات مرتبط با کشت سلول مانند FBS، محیط کشت و سلول های سرطانی و بنیادی
 ۵. میکروتیوب ها دستگاه های Real-Time PCR

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.

با ما در تماس باشید

۰۹۱۳۲۹۲۶۱۱۳

WWW.KARMANIAPARSGEN.IR

karmaniaparsgene@gmail.com