

biorexfars
GLUTATHIONE REDUCTASE
 PRODUCT CODE: BXC0459

BXC0459A
R1:1x50ml,R2:5x5ml,R3:5x3ml
در دمای ۲ تا ۸ درجه سانتیگراد نگهداری شود.
دستورالعمل استفاده محصول
For R&D use only

بایرکس فارس

گلو تاتیون ردوکتاز

کد محصول : BXC0459

گلو تاتیون ردوکتاز

Kit Contents:		BXC0459A
R1	Buffer	1 x 50 ml
R2	GSSG Reagent	5 x 5 ml
R3	NADPH	5 x 3 ml

موارد مصرف:

تعیین کمی آنزیم گلو تاتیون ردوکتاز (GRX) در سرم، پلاسما یا گلبول قرمز.

مقدمه:

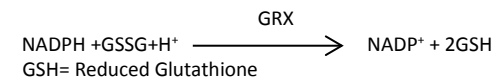
آنزیم گلو تاتیون ردوکتاز (GRX) آنزیمی است که در انسان توسط ژن GSR کد می شود و به عنوان کاتالیزور در واکنش احیاء گلو تاتیون دی سولفید (GSSG) به گلو تاتیون سولفیدریل (GSH) شرکت می کند. GSH یک مولکول حیاتی در مقاومت سلول ها در مواجهه با استرس اکسیداتیو به شمار می رود. حضور این آنزیم در چرخه اکسیداسیون و کاهش گلو تاتیون که باعث حفظ سطح GSH می شود بسیار ضروری می باشد. همچنین گلو تاتیون در فولدینگ پروتئین ها نقش مهمی را ایفا می کند.

روش:

(GSSG) Enzymatic

اساس آزمایش:

آنزیم گلو تاتیون ردوکتاز (GRX) واکنش احیاء گلو تاتیون (GSSG) را در حضور NADPH کاتالیز می کند که باعث اکسید شدن NADPH به NADP⁺ می شود. کاهش جذب نوری در طول موج متناسب اندازه گیری می شود که با مقدار آنزیم GRX متناسب است.



غلظت معرف ها:

R1	Phosphate Buffer pH7.2	0.05 mol/l
	EDTA	4.3 mmol/l
R2	GSSG	2.2 mmol/l
R3	NADPH	0.17 mmol/l

شرایط نگهداری و آماده سازی محلول ها:

۱) **Buffer (R1):** محتویات آماده مصرف می باشد و تا تاریخ انقضاء در دمای ۲ تا ۸ درجه سانتیگراد پایدار است.

۲) **GSSG (R2):** ۱ ویال از معرف GSSG (R2) ، با ۵ میلی لیتر بافر (R1) مخلوط شود. این محلول ۲ روز در دمای ۲ تا ۸ درجه سانتیگراد پایدار است. (working reagent)

۳) **NADPH (R3):** ۱ ویال از NADPH (R3) ، با ۳ میلی لیتر آب مقطر رقیق شود. این محلول ۲ روز در دمای ۲ تا ۸ درجه سانتیگراد پایدار است.

نمونه و پایداری نمونه ها:

سرم، پلاسما، گلبول های قرمز.

آماده سازی گلبول های قرمز:

جهت آماده سازی نمونه ۰/۵ میلی لیتر از خون تام، به مدت ۵ دقیقه در ۲۰۰۰ rpm سانتریفوژ شود و پلاسما و باقی کت به دقت جدا شود (دقت شود گلبول قرمز زیادی دور ریخته نشود). سپس گلبول های قرمز باقیمانده با محلول نرمال سالین ۰/۹٪ به مدت ۵ دقیقه در ۲۰۰۰ rpm در هر مرتبه شسته شود. (این کار را ۳ مرتبه تکرار کنید)

بعد از آن گلبول های شسته شده باقی مانده را با اضافه کردن آب مقطر سرد به حجم ۰/۵ میلی لیتر برسانید و بعد از مخلوط کردن به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۲ درجه سانتی گراد قرار دهید. بعد از آن به مدت ۵ دقیقه در ۲۰۰۰ rpm سانتریفوژ شود. محلول رویی دور ریخته شود و برای انجام آزمایش ۱۰۰۱ μl از لیزات با ۱/۹ میلی لیتر از محلول سالین ۰/۹٪ رقیق شود.

روش انجام آزمایش:

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

مواد به صورت زیر به داخل لوله های آزمایش اضافه شود:

	Blank	Sample
Sample	---	40 μl
working Reagent	1000 ul	1000 ul
خوب مخلوط کرده و سپس اضافه شود؛		
Reagent 3	200 ul	200 ul

پس از مخلوط نمودن، مقدار جذب نوری اولیه نمونه پس از ۱ دقیقه خوانده شود، کرومومتر را به کار انداخته و دقیقاً ۲، ۳، ۴ و ۵ دقیقه پس از آن جذب نوری خوانده شود.

نکته: توصیه می شود آزمایش فوق بصورت دستی استفاده شود.

محاسبات:

$$\text{Haemolysate(U/l)} = \Delta A / \text{min} \times 4983 \times \text{Dilution Factor (20)}$$

$$\text{GRX(u/g Haemoglobin)} = \frac{\text{GRX (U/L)}}{\text{Haemoglobin sample (g/L)}}$$

خطی بودن:

این روش تا مقدار GRX ۱۹۰ U/L خطی می باشد.

در مواردی که غلظت نمونه بالاتر باشد، نمونه به نسب ۱+۲ با سرم فیزیولوژی رقیق و در عدد ۳ ضرب شود.

حساسیت:

حداقل مقدار قابل اندازه گیری U/L ۱۰ می باشد.

دقت:

Intra Assay – Within Run			
Sample	Mean (U/L)	SD (U/L)	CV%
Control 1	30	1.4	4.66
Control 2	67	3.9	5.82
Control 3	110	4.1	3.72

BXC0459A
R1:1x50ml,R2:5x5ml,R3:5x3ml
در دمای ۲ تا ۸ درجه سانتیگراد نگهداری شود.
دستورالعمل استفاده محصول
For R&D use only

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

منابع:

1. Thomas JP et al. (1990) J.Biol. Chem. 265:454-461.
2. Pippenger C.E et al (1998) Humana press, Totowa , NJ pp: 299-313.
3. Paglia D.E., Valentine WN (1967) J Lab. Clin. Med. 70: 158-169

Inter Assay – Between Run			
Sample	Mean (U/L)	SD (U/L)	CV%
Control 1	32	1.6	5.0
Control 2	70	4.2	6.0
Control 3	115	4.9	4.26

مقادیر نرمال:

Plasma / Serum
33-73 U/l
Erythrocytes
4.7 – 13.2 u/gHb

این مقادیر تنها به عنوان راهنما می باشد، توصیه می شود هر آزمایشگاه مقادیر مرجع خود را تعیین نماید.

مقایسه روش ها:

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

$$Y=1.0(X)-2.5 \text{ U/L}, r=0.995$$

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.

کنترل کیفیت:

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

Biorexfars GRX Control Cat No BXC0460A

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

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