



شرکت دانش بنیان نوراژن پیشرو

آدرس: تهران - امیرآباد - خیابان کارگرشمالی - خیابان ۱۶ (فرشی مقدم) - درب پردیس شمالی دانشگاه تهران - پارک علم و فناوری دانشگاه تهران - ساختمان الکتروشیمی کد پستی: ۱۴۳۹۸۱۷۴۳۵

شماره ثبت: ۵۰۱۱۸۰

شناسه ملی: ۱۴۰۰۶۳۱۸۵۶۰

کیت سنجش لوسیفراز (LUCIFERASE)

آنزیم لوسیفراز به عنوان ابزاری کارآمد و سودمند در زمینه های مختلف مثل بیوتکنولوژی، زیست شناسی سلولی و مولکولی، پزشکی، صنعت و تحقیقات مورد استفاده واقع می شود. ویژگی های منحصر به فرد این آنزیم مانند حساسیت بالا به ATP باعث شده که از آن در تهیه کیت های تشخیصی و حسگر های زیستی، توالی یابی DNA به روش پیروسکونسینگ، ارزیابی فسفاتاز ها، غربالگری دارو ها، بررسی برهمکنش و تاخوردگی پروتئین ها، سنجش آنزیمی، به کار گرفته شود.

مواردی که کاربرد کیت سنجش لوسیفراز راتحت تاثیر قرار می دهند:

- بهترین دمای نگهداری سوبسترا، آنزیم و بافر CCLR در ۲۰- سانتی گراد می باشد.
- از ذوب و انجماد مکرر خودداری کنید.



☎ ۰۹۱۳۳۹۸۸۱۴۸ - ۰۹۹۰۳۰۱۹۹۷۵

✉ Noragene.pishro@gmail.com

🌐 www.noragene.com

سیستم سنجش لوسیفراز

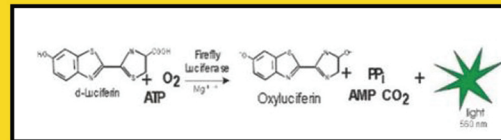
سیستم های سنجش گزارشگر ژنتیکی به طور گسترده در زیست شناسی سلولی برای مطالعه بیان ژن یوکاریوتی و فیزیولوژی سلولی و سایر رویدادهای سلولی مرتبط با ژن استفاده می شوند. از جمله این مطالعات می توان به مطالعه فعالیت گیرنده، فاکتورهای رونویسی، سیگنال دهی درون سلولی، پردازش mRNA، تا خوردگی پروتئین و فعل و انفعالات پروتئین اشاره کرد. بنابه دلایل زیر آنزیم لوسیفراز به عنوان گزارشگر، گزینه مناسبی جهت سنجش فعالیت های درون سلول می باشد:

- فعالیت گزارشگر بلافاصله پس از ترجمه در دسترس است زیرا پروتئین نیازی به پردازش پس از ترجمه ندارد.
- این سنجش بسیار حساس است زیرا تولید نور دارای بالاترین بازده کوانتومی است.
- هیچ گونه واکنش پس زمینه لومینسانس در سلول های میزبان یا روش های سنجش یافت نمی شود.
- سنجش سریع است و تنها به چند ثانیه در هر نمونه نیاز دارد.

سیستم سنجش لوسیفراز نسبت به روش های سنجش مرسوم از نظر حساسیت و سادگی به طور قابل توجهی بهبود یافته است. آنزیم لوسیفراز از حشره شب تاب *pyralisphotinus* (flyfire) در طی واکنش با لوسیفیرین، ATP و اکسیژن، نوری را نشر می کند که در محدوده نور (سبز - زرد) است. آنزیم لوسیفراز از حشره شب تاب، با وزن مولکولی ۶۲ کیلو دالتون از مهم ترین آنزیم های صنعتی است که در حوزه علوم پزشکی، بیوتکنولوژی، بیولوژی سلولی و مولکولی مورد استفاده قرار می گیرد.

سیستم سنجش لوسیفراز

سیستم سنجش آنزیم لوسیفراز به منظور ارزیابی فعالیت آنزیم لوسیفراز موجود در سلول یوکاریوتی طراحی شده است. تعداد سنجش های این سیستم حاوی مواد واکنشگر مختص به آنزیم لوسیفراز، بافر سنجش آنزیم و بافر لیز کننده سلولی برای انجام ۱۰۰ تست می باشد. در این روش با استفاده از انجام لیز سلول و سنجش فعالیت آنزیم لوسیفراز می توان کیفیت بیان سایر ژن های سلول را مورد بررسی قرار داد.



در این واکنش ATP به همراه لوسیفیرین و اکسیژن در حضور آنزیم لوسیفراز کمپلکس اکسی لوسیفیرین را تشکیل می دهد. و باعث ایجاد نور می شود که شدت نور تولید شده نشانگر فعالیت آنزیم لوسیفراز است.



سیستم سنجش آنزیم لوسیفراز

سیستم سنجش آنزیم لوسیفراز از دو مرحله تشکیل شده است:

- ۱- لیز کردن سلول به کمک بافر سلولی.
 - ۲- خوانش فعالیت آنزیم به کمک سوپسترا مخصوص از طریق دستگاه اندازه گیری نور حاصل.
- دستگاه لومینومتر نور حاصل را به صورت کمی گزارش می دهد.

دستورالعمل نحوه استفاده:

ابتدا محیط کشت سلولی از چاهک های پلیت حذف و هر چاهک با بافر PBS شست و شو داده شود. به هر چاهک حاوی سلول ۵۰ μl بافر CCLR اضافه شود و پلیت به مدت ۲۰ دقیقه روی یخ انکوبه گردد. بعد از پایان زمان انکوباسیون ۷۰ μl از سوپسترا به هر چاهک اضافه و خوانش انجام می شود. محتویات کیت جهت انجام ۱۰۰ تست شامل موارد زیر می باشد.

محل	مقدار محلول
سوپسترا سنجش لوسیفراز	۷
بافر لیز کننده سلول (CCLR)	۵

- ۱- حذف محیط و شست و شو سلول با بافر PBS
- ۲- لیز سلول با بافر CCLR
- ۳- آنکوباسیون روی یخ به مدت ۲۰ دقیقه
- ۴- اضافه کردن سوپسترا
- ۵- خوانش فعالیت لوسیفراز توسط دستگاه

شرایط نگهداری کیت:

- نگهداری کیت در شرایط محیطی خارج از محدوده دمای مجاز.
- نگهداری سوپسترا در مقابل نور.
- نگهداری و استفاده از سوپسترا در مدت طولانی.