天净沙系列

CAT#:7-C67-56-1

低温运输，-20℃保存

天净沙

甲醇含量测定试剂盒

Methanol Assay Kit

使用手册 V0.5

北京天净沙基因科技有限公司

网址：www.tjs.bio；电话：400-1078566；电邮：order@tjs.bio

产品及特点

本产品是用于检测甲醇（Methanol，CAS: 67-56-1）含量的试剂盒。其原理是甲醇被醇氧化酶催化生成甲醛。之后甲醛又与 4-氨基-3-肼基-5-巯基-1，2，4-三唑反应生成紫红色物质，该紫红色物质在 550 nm 下有特征光吸收，通过测定反应过程中产物吸光度的变化，可以间接计算甲醇的含量，来测定甲醇的含量。本产品有如下特点：

1. 即开即用，使用便捷，用户不需要优化条件，只需准备待测样本。
2. 提供甲醇阳性对照。
3. 灵敏度高，最低检测限为 x μM。
4. 可以定量，线性范围在 y μM-z μM 之间。
5. 本产品足够 100 次 1 mL 体系的比色皿检测或 400 次 250 μL 体系的 96 孔板检测。
6. 本产品只可用于科研。

规格及成分

本产品采用小扁盒包装

成份	编号	规格	包装
甲醇含量测定反应液	7-C67-56-1r	125 mL	125 mL 本色瓶
甲醇含量测定显色液	7-C67-56-1c	50 mL	50 mL 棕色瓶
10 mM 甲醇溶液	C67-56-1A	1 mL	1.5 mL 本色管
醇氧化酶干粉	7-C67-56-1e	100 T	1.5 mL 红盖管
使用手册	7-C67-56-1sc	1 份	无

运输及保存

低温运输，-20℃保存，有效期一年。

自备试剂

待测样品，超纯水，比色皿或 96 孔板及与之匹配的分光光度计。

使用方法

一、首次使用本试剂盒时配制下列溶液

1. 配制醇氧化酶液：将 1 mL 甲醇含量测定反应液加入到装有醇氧化干粉的管中，颠倒摇晃 20 次溶解，得醇氧化酶液，放冰上待用。没有用完的本溶液需要放-20℃或更低温度保存。

二、制备待测样本

2. 用自备试剂制备待测样品。

三、标准曲线法 1 mL 体系比色皿测定

3. 开机预热分光光度计并用超纯水调零后待用。
4. 标记 1-6 号共 6 个 1.5 mL 塑料离心管。
5. 使用梯度稀释法，用本试剂盒提供的甲醇含量测定反应液将 10 mM 甲醇溶

液配制一组浓度分别为 1 mM、750 μM、500 μM、250 μM、100 μM 和 0 μM 的甲醇梯度稀释液（一下简称标曲梯度液）。

6. 设置反应。如果有 N 个待测样本，每个做 1 次重复，则需要设置 N+7 个反应多出的 6 个用于标准曲线制备，另外一个用做阴性对照。在 N+7 个 1.5 mL 离心管中按下表分别加入各成份：

成份	N 个 待测样本管	阴性对照	1-6 号标曲管
甲醇含量测定反应液	各 430 μL	430 μL	各 430 μL
N 个待测样本	各 100 μL	不加	不加
标曲梯度液	不加	不加	各 100 μL 到对应的 1-6 号标曲管
醇氧化酶液	20 μL	20 μL	20 μL
混合均匀 37℃保温 10 min			
甲醇含量测定显色液	各 450 μL	450 μL	各 450 μL
震荡混匀，30℃下反应 30 min			

7. 冷却到室温后迅速使用分光光度计测定每个样本在 550 nm 的光吸收读数，测前用超纯水调零，共得 N+7 个读数。

四、数据处理

8. 计算真实 OD550 光吸收：每个样本测得的光吸收减去阴性对照的光吸收即为每个样本的光吸收。共 N+6 个读数。
9. 制备标准曲线：以甲醇溶液的浓度为横轴，以其真实 OD550 光吸收为纵轴，绘制标准曲线。
10. 将 N 个待测样品的 OD550 值带入标准曲线方程，即可计算出每个待测样品中的甲醇的浓度。

四、96 孔板检测

11. 同上，只是所有反应体系按比例缩小使得终体积跟酶标用多孔板板兼容，最后在 550 nm 测定光吸收

关联产品	乙醇含量测定试剂盒