天净沙系列

CAT#:7-C64-18-6

低温运输，-20℃保存

天净沙

甲酸含量测定试剂盒

Formic Acid Assay Kit

使用手册 V1.0

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

本产品用于测定甲酸（Formic Acid，FA，CAS 64-18-6）含量。其原理是 FA 在甲酸脱氢酶（Formate dehydrogenase，FDH）的作用下与 NAD+反应生成 NFDH。由于后者在 340 nm 处有特征光吸收，故以其为测定物。通过监测测定物吸光度在此波长的改变即可计算出样本中 FA 含量。本产品具有如下特点:

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 FA 阳性对照，便于在遇到问题时分析原因。
3. 适用于检测从各种样本中提取的，或合成的 FA。
4. 灵敏度高，最低检测限为 4 mM。
5. 可以定量，线性范围在 5 mM -25 mM 之间。
6. 提供标准曲线法和消光系数法两种操作流程。
7. 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。
8. 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
反应液	7-C64-18-6r	100 mL	120 mL 本色瓶
偶联酶溶液	7-C64-18-6en	4 mL	5 mL 本色瓶
25 mM 标曲液	7-C64-18-6sd	5 mL	5 mL 本色瓶
使用手册	7-C64-18-6sc	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，样本溶解液，超纯水，比色皿及与之匹配的分光光度计，96 孔板及与之匹配的分光光度计。

使用方法

一、制备待测样本

1. 用自备试剂制备待测样品。待测样本的 pH 必须在 7.4，否则可能会改变反应体系的 pH;待测样本中不得含 EDTA、EGTA 和吡唑及其衍生物等物质，也不能含有 Hg2+、Cu2+、Ag+、Pb2+等金属离子，因为它们会抑制酶活性；样本中也不得含有能生成或降解反应底物的酶。

二、标曲制备（以 5 个浓度梯度的标曲液为例）

2. 标记 0-5 号共 6 个 1.5 mL 离心管，并在 1-5 号管中加入 0.2 mL、0.4 mL、0.6 mL、0.8 mL、1 mL 试剂盒提供的 25 mM 标曲液，只 0 号管不加。
3. 在 0 号管中加入 1 mL 超纯水。
4. 在 1-4 号管中分别补水至 1 mL。最后，0-6 号管中标曲液浓度分别为 0mM、5 mM、

10 mM、15 mM、20 mM、25 mM。放冰上待用。

5. 将分光光度计开机，预热 30 分钟后用超纯水调零。

6. 按下表设置反应：

成分	7 个标曲管
反应液	各 860 μL
标曲液	各 100 μL 到对应管
酶溶液	各 40 μL

7. 加酶溶液后快速混匀 30 秒后放室温反应 45 分钟，然后测定每个样本在 340 nm 的光吸收（以下全部简称为 A 值）。

8. 数据处理：将 1-6 号的 A 值分别减去 0 号的 A 值即得各样本的真实 A 值。

9. 绘制标曲：以 1-6 号标曲液浓度（单位为μM）为横轴，以每个样本的 A 值为纵轴，绘制标准曲线并得到线性回归方程式 C = a*A + b。C 为标曲液浓度（单位为μM），A 为 A 值。

10. 此公式可在后续计算中使用，不需要每次再做标曲，但必须在后续实验中设置 1 个质控点样本随待测样本一起测试。质控点样本的标曲液浓度必须在上述标的线性范围内，并且最好跟上述 7 个标曲液浓度不同。测试后将质控点样本的 A 值代入到上步的方程式得其计算浓度，如果此浓度跟质控点的配制浓度差异在 10%以内，则可以用此公式计算其余待测样本。如果差异大于 10%，则需在测试待测样本时同步制备新的标曲。

四、样本测定

11. 设置反应：在 1.5 mL 离心管中按下表分别加入各成份：

成分	质控点 样本管	N 个待测样本 无酶对照管	N 个待测 样本管
反应液	860 μL	各 860 μL	各 860 μL
质控点样本	各 100 μL	不加	不加
自备 N 个待测样本	不加	各 100 μL	各 100 μL
酶溶液	40 μL	不加	各 40 μL

12. 加酶溶液后混匀 30 秒后放室温反应 45 分钟，再测定每个样本在 340 nm 的 A 值。

五、数据处理

13. 计算真实 A 值：将各样本的 A 值减去所对应的无酶对照样本的 A 值，即得各样本的真实 A 值。

14. 将真实 A 值导入到 C = a*A + b 公式中，即可计算出样本中测定物浓度（单位为μM）。

	由于测定物的浓度改变跟 FA 的浓度改变是 1:1 的关系，故计算所得的测定物浓度即是样本中的 FA 浓度。 15. 如果计算所得的测定物浓度在标曲的线性范围外，则对应的样本需要稀释，直到其测得的测定物浓度在标曲的线性范围内。必须记录下稀释倍数 N，则计算样本×N 即是稀释前样本的浓度。 **六、96 孔板检测** 16. 操作同上，只是在设置反应时，反应总体积为 0.25 mL，各成份的用量需要×25%。
关联产品	甲酸抽提试剂盒