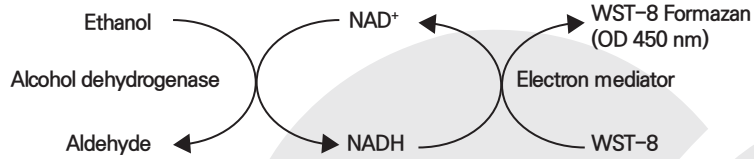


PicoSens™ Ethanol Assay Kit (Colorimetric)

(BM-ETH-100, 100 assays, Store at -20°C)

실험 원리



BIOMAX PicoSens™ Ethanol Assay Kit (Colorimetric)에서 Alcohol dehydrogenase로 인해 Ethanol이 Aldehyde로 전환되며 이때 NAD⁺가 NADH로 환원됩니다. NAD⁺와 NADH의 산화 환원 순환 반응에서 NADH가 산화될 때 발생하는 수소원자와 WST-8이 반응하여 WST-8 Formazan을 형성하게 되고 이는 흡광도 450 nm에서 측정되며 이를 통해 Ethanol의 농도를 확인할 수 있습니다.

제품의 구성 및 보관 조건

Components	Size	Storage
Assay Buffer	15 mL	-20°C
Ethanol Enzyme (Lyophilized)	1 vial	
NAD (Lyophilized)	1 vial	
Ethanol Probe	1 mL	
Stop Solution	15 mL	
Ethanol Standard (1%)	0.5 mL	

* 개봉하지 않은 제품은 빛을 차단한 상태에서 -20 °C 보관 시 1년간 안정적입니다.

검사 필요 장비 및 소모품

- ▶ 96-well Microplate (Clear, Flat bottom)
- ▶ Pipette & Sterile tips
- ▶ D.W.
- ▶ PBS
- ▶ Colorimetric microplate reader (450 nm filter)

실험 전 준비사항 및 보관방법

- ▶ 제품의 모든 구성품은 상온에서 놔두어 완전히 녹인 후 사용합니다.
- ▶ Vial 뚜껑 내부에 시약이 묻어 있을 수 있으니 개봉 전 원심 분리합니다.
- ▶ **Ethanol Enzyme** : D.W. 110 μl로 녹인 후 Sample 수와 사용량에 맞게 분주하여 보관합니다. 사용 후 -20°C에 보관하여 2개월 이내에 사용합니다.
- ▶ **NAD** : D.W. 110 μl로 녹인 후 Sample 수와 사용량에 맞게 분주하여 보관합니다. 사용 후 -20°C에 보관하여 2개월 이내에 사용합니다.

Sample type

- Other biological fluids
- Cell culture supernatant or media
- Serum, Plasma or Urine

Sample preparation

- 모든 Sample은 PBS로 희석하여 사용합니다.
- 단백질의 함량이 높은 Sample의 경우 10 kDa Cut-off Column을 이용하여 전 처리 후 사용합니다. (Beverages, Fruits..)

Standard preparation

25 μl 의 Ethanol Standard를 225 μl D.W.와 혼합하여 0.1% Standard solution을 만들어 아래 표와 같이 만듭니다.

STD No.	Vol. of 0.1% Standard solution (μl)*	D.W. (μl)*	Final STD Vol. in well ($\mu\text{l}/\text{well}$)	Final STD Percent (%)
Blank	0	10	10	0
2	2	8	10	0.02
3	4	6	10	0.04
4	6	4	10	0.06
5	8	2	10	0.08
6	10	0	10	0.1

* Single test 기준입니다. Duplicate 또는 Triplicate 이상을 권장합니다.

실험 과정

* 미지의 Sample 또는 처음 측정하는 Sample 의 경우 측정값이 Standard curve 내에 위치하도록 예비실험 진행한 후 사용을 권장합니다.

* Standard는 실험할 때마다 Standard solution으로 희석하여 사용하며 희석한 Standard solution은 재사용하지 마십시오.

- 준비된 Sample 2~10 μl 를 96-well Microplate에 분주 후 최종 Volume은 PBS로 10 μl 가 되도록 조정합니다.
- 준비된 Standard solution을 각 Well에 10 μl 씩 분주합니다.
- Reaction mix를 아래와 같이 만들어 준비합니다.

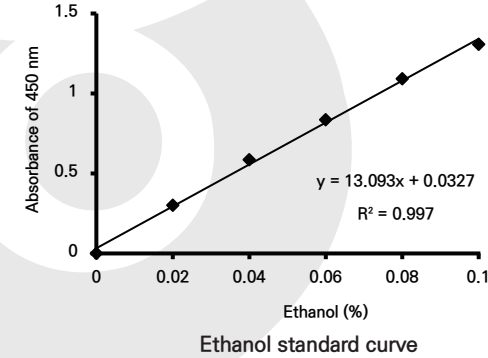
Kit components (Colorimetric)	Mix
	Reaction (90 $\mu\text{l}/\text{well}$)
Assay Buffer	78 μl
Enzyme Mix	1 μl
NAD	1 μl
Ethanol Probe	10 μl

* 90 $\mu\text{l}/\text{well}$ 기준으로 Sample과 Standard well 수를 고려하되 총 소요량보다 약 10% 많은 Reaction mix를 준비합니다. (사용 전 Spin-down)

- Sample과 Standard solution을 분주한 Well에 혼합한 Reaction mix를 90 μl 씩 분주합니다.
- 상온에서 30 min 동안 Incubation 후 Stop Solution 100 μl 를 각 well 에 분주하여 반응을 멈춥니다.
- Microplate reader로 흡광도 450 nm에서 측정합니다.

결과 분석

- 각 Standard well과 Sample well의 Duplicate 또는 Triplicate 측정값의 평균값을 구합니다.
- 모든 측정값에서 Blank 값을 뺍니다.
- Standard Curve에 Sample의 OD값을 대입하여 Sample 내 Ethanol의 농도를 구합니다.



Related products

BM-ACH-100

PicoSens™ Acetylcholinesterase Activity Assay Kit (Colorimetric)

* 안전한 사용을 위해 유해물질 정보는 MSDS를 참조하십시오.