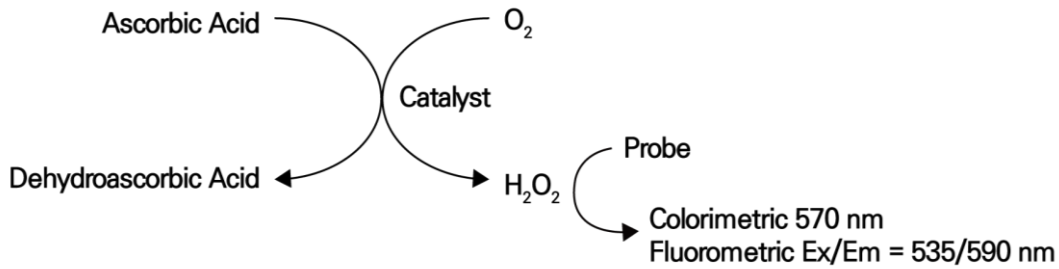


PicoSens™ Ascorbic Acid Assay Kit

(Colorimetric / Fluorometric)

BM-ACC-100, 100 assays

제품 원리



BIOMAX PicoSens™ Ascorbic Acid Assay Kit (Colorimetric/Fluorometric)는 산소, Catalyst 존재하에 Ascorbic acid를 산화시켜 H₂O₂를 생성합니다. 생성된 H₂O₂가 Probe와 반응하여 흡광도 570 nm, 형광 Excitation/Emission = 535 nm/590 nm에서 측정되며, 이를 통해 Sample 내의 Ascorbic acid의 양을 확인할 수 있습니다.

제품의 구성 및 보관 조건

Components	Size	Storage
Ascorbic Acid Assay Buffer	25 ml	-20°C
Ascorbic Acid Enzyme Mix (Lyophilized)	1 vial	
Ascorbic Acid Catalyst	500 µl	
Ascorbic Acid Probe	200 µl	
Ascorbic Acid Standard (100 mM)	100 µl	

* 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
- ▶ Colorimetric microplate reader (570 nm filter) or
Fluorometric microplate reader (Excitation/Emission = 535 nm/590 nm filter)

실험 전 준비 사항 및 보관 방법

- 제품의 모든 구성품은 상온에서 놔두어 완전히 녹인 후 사용합니다.
- Vial 뚜껑 내부에 시약이 묻어 있을 수 있으니 개봉 전 원심 분리합니다.

Ascorbic Acid Assay Buffer

Ascorbic Acid Assay Buffer가 차가운 상태일 경우 Assay가 잘 작동하지 않을 수 있습니다. Assay Buffer는 반드시 상온 온도로 맞추어 실험을 진행합니다. 사용 후 4 °C 또는 -20°C에 보관합니다.

Ascorbic Acid Enzyme Mix

Ascorbic Acid Assay Buffer 220 µl를 넣고 녹입니다. 사용 후 -20 °C에 보관할 수 있으며 2개월 이내에 사용합니다.

Ascorbic Acid Catalyst

사용 후 -20 °C에 보관할 수 있으며 2개월 이내에 사용합니다.

Ascorbic Acid Probe

사용 후 -20 °C에 보관할 수 있으며 2개월 이내에 사용합니다.

Ascorbic Acid Standard

사용 후 -20 °C에 보관할 수 있으며 쉽게 산화될 수 있으니 빛 차단유의하여 사용합니다. 2개월 이내에 사용합니다.

Sample type

- Various biological samples
- Cells/Tissues
- Juice/Fruits/Beverages

Sample preparation

- * 본 제품은 흡광도 570 nm에서 Pink-red color를 내기 때문에 색이 있는 Sample (Carrots, Black berries, Juice 등)은 Interference 작용이 나타날 수 있습니다. Background를 낮추기 위해 Volume을 잘 조절한 후 사용합니다. 또는 적은 Sample로도 민감도가 높은 Fluorometric 방법을 사용합니다.
- * Serum sample의 경우 다른 단백질이나 여러 Components에 의해 Interference 현상이 매우 크므로 권고하지 않습니다. 이 경우에는 The Ferric Reducing/Antioxidant Ascorbic Acid (FRASC) 기반으로 하는 Ascorbic Acid Assay를 권장합니다.
- * 측정하고자 하는 Sample을 반복적으로 냉해동 시킬 경우 Self-life가 현저히 낮아질 수 있습니다. Sample을 얼리기 전에 Aliquot하여 사용합니다.
- * Serum sample은 다른 단백질을 과량으로 함유하고 있거나 Interference compound가 함유되어 있어 본 제품에는 적합하지 않습니다.
- * Sample의 Deproteinized가 되지 않는 경우 결과값이 제대로 나오지 않을 수 있습니다. 이 때, 10 kDa Spin cut-off filter나 PCA precipitation 방법을 사용하여 Sample을 Deproteinize 합니다.

Tissue / Cell

- ① Tissues와 Cells에 D.W.를 첨가하여 Homogenization 합니다.
- ② 완전히 파쇄된 것을 확인 한 후 4°C에서 10 min 간 3000 rpm으로 Centrifuge하여 Supernatant를 새로운 Microtube로 옮겨 사용합니다.

실험 과정

- * 미지의 Sample 또는 처음 측정하는 Sample의 경우 측정값이 Standard curve 내에 위치하도록 예비실험 진행한 후 사용을 권장합니다.
- * Sample의 측정 값이 높은 Background 값을 가지면 측정에 사용한 동일 양의 Sample을 Background control로 준비합니다.
- * Standard는 실험할 때마다 Standard solution으로 희석하여 사용하며 희석한 Standard solution은 재사용하지 마십시오.

Colorimetric method

Standard preparation

100 mM Ascorbic Acid Standard 10 μ l와 D.W. 990 μ l를 혼합하여 1 mM Standard solution을 만들어 아래 표와 같이 만듭니다.

STD No.	Vol. of 1 mM Standard solution (μ l)*	Assay Buffer (μ l)*	Final STD Vol. in well (μ l/well)	Final STD Amount in well (μ g/well)
Blank	0	120	120	0
2	2	118	120	1
3	4	116	120	2
4	6	114	120	3
5	8	112	120	4
6	10	110	120	5

* Single test 기준입니다. Duplicate 또는 Triplicate 이상을 권장합니다.

① 준비된 Sample 2~120 μ l를 96-well Microplate에 분주 후 최종 Volume은 Ascorbic Acid Assay Buffer로 120 μ l가 되도록 조정합니다.

② 준비된 Standard solution을 각 Well에 120 μ l씩 분주합니다.

③ Catalyst 100 μ l와 D.W. 900 μ l를 섞어 Catalyst solution을 준비하여 각 Well에 30 μ l씩 분주합니다.

* Well 당 30 μ l씩 사용하므로 필요량만큼 만들어 사용합니다.

④ Reaction mix를 아래와 같이 만들어 준비합니다.

* 높은 Background를 갖는 Sample의 경우 Background control mix를 준비합니다.

Kit components (Colorimetric)	Mix	
	Reaction (50 μ l/well)	Background Control (50 μ l/well)
Assay Buffer	46 μ l	48 μ l
Enzyme Mix	2 μ l	- μ l
Probe	2 μ l	2 μ l

* 50 μ l/well 기준으로 Sample과 Standard well 수를 고려하되 총 소요량보다 약 10% 많은 Reaction mix를 준비합니다. (사용 전 Spin-down)

⑤ Sample과 Standard solution을 분주한 Well에 혼합한 Reaction mix를 50 μ l씩 분주합니다.

* 높은 Background를 갖는 Sample의 경우 준비한 Background control well에 Background control mix 50 μ l를 분주합니다.

⑥ 즉시 Microplate reader로 흡광도 570 nm에서 측정합니다.

Fluorometric method

Standard preparation

100 mM Ascorbic Acid Standard 10 μ l와 D.W. 990 μ l를 혼합하여 1 mM Standard solution을 만듭니다.
1 mM Standard solution 10 μ l와 D.W. 90 μ l를 혼합하여 100 uM Standard solution을 만들어 아래 표와 같이 만듭니다.

STD No.	Vol. of 100 uM Standard solution (μ l)*	Assay Buffer (μ l)*	Final STD Vol. in well (μ l/well)	Final STD Amount in well (μ g/well)
Blank	0	120	120	0
2	2	118	120	0.2
3	4	116	120	0.4
4	6	114	120	0.6
5	8	112	120	0.8
6	10	110	120	1.0

* Single test 기준입니다. Duplicate 또는 Triplicate 이상을 권장합니다.

- 준비된 Sample 2~120 μ l를 96-well Microplate에 분주 후 최종 Volume은 Ascorbic Acid Assay Buffer로 120 μ l가 되도록 조정합니다.
- Standard solution을 각 Well당 120 μ l씩 분주합니다.
- Catalyst 100 μ l와 D.W. 900 μ l를 섞어 Catalyst solution을 준비하여 각 Well에 30 μ l씩 분주합니다.
- Reaction mix를 아래와 같이 만들어 준비합니다.

* Well 당 30 μ l 씩 사용하므로 필요량만큼 만들어 사용합니다.

* 높은 Background를 갖는 Sample의 경우 Background control mix를 준비합니다.

Kit components (Colorimetric)	Mix	
	Reaction (50 μ l/well)	Background Control (50 μ l/well)
Assay Buffer	47.6 μ l	49.6 μ l
Enzyme Mix	2 μ l	- μ l
Probe	0.4 μ l*	0.4 μ l

* 50 μ l/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 50 μ l씩 분주합니다.
- 높은 Background를 갖는 Sample의 경우 준비한 Background control well에 Background control mix 50 μ l를 분주합니다.
- 즉시 Fluorometric microplate reader로 Excitation/Emission = 535 nm/590 nm 에서 측정합니다.

결과 분석

- **Ascorbic acid molecular weight : 176.12 g/mol**
- 각 Standard well과 Sample well의 Duplicate 또는 Triplicate 측정값의 평균값을 구합니다.
- 모든 측정값에서 Blank 값을 뺍니다.
* Sample background control을 설정한 경우 Sample의 측정값에서 Sample background control 측정값과 Blank 측정 값을 모두 빼줍니다.
- Standard Curve에 Sample의 OD값을 대입하여 구한 Ascorbic acid의 양으로 다음 식을 이용하여 Sample 내 Ascorbic acid의 농도를 구합니다.

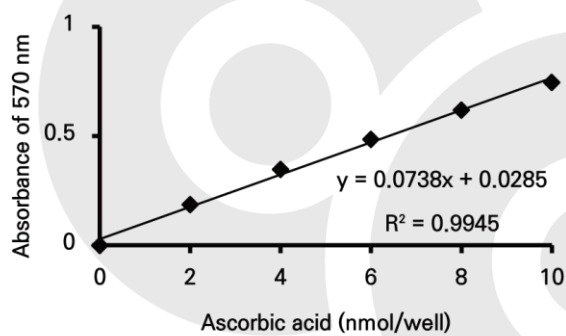
$$C \text{ (nmol/}\mu\text{l or }\mu\text{mol/ml or mM)} = B/V \times D$$

C : Sample 의 Ascorbic acid 농도 (nmol/ μ l)

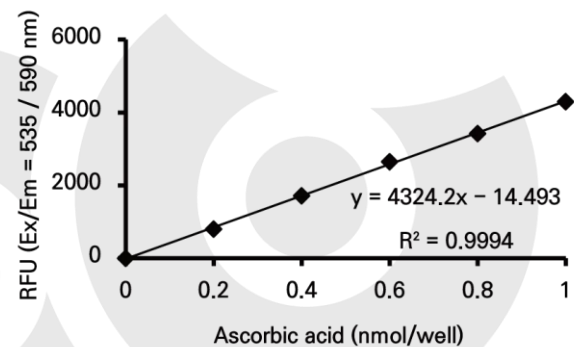
B : 측정 Well 의 Ascorbic acid 양 (nmol)

V : Well 에 분주한 시료의 Volume (μ l)

D : Sample 희석 배율



Ascorbic acid standard curve (Colorimetric)



Ascorbic acid standard curve (Fluorometric)

Related products

- | | |
|----------------|--|
| - BM-ATP-100 | PicoSens™ ATP Assay Kit (Colorimetric/Fluorometric) |
| - BM-NDH-100 | PicoSens™ NAD/NADH Assay Kit (Colorimetric) |
| - QA-0100/1000 | Quanti-ATP™ Luciferase Cell Viability Assay Kit (Luminometric) |

* 안전한 사용을 위해 유해물질 정보는 **MSDS**를 참조하십시오.



Homepage : www.biomax.com

Shopping mall : www.biomaxmall.com

E-mail : info@scgbiomax.com

Tel : 02-3296-3158 / Fax : 02-973-2858

(주) 바이오맥스 : 경기 구리시 갈매순환로166번길 46, 금강펜테리움 IX타워 CORE-C, 7층

Note