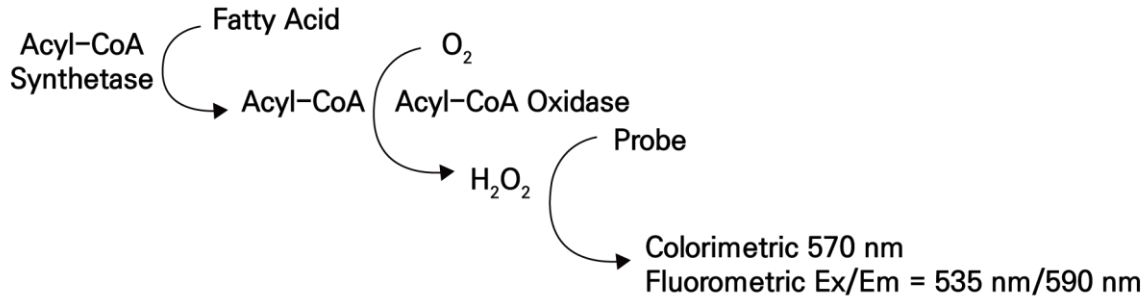


PicoSens™ Free Fatty Acid Assay Kit

(Colorimetric / Fluorometric)

BM-FFA-100, 100 assays

제품 원리



BIOMAX PicoSens™ Free Fatty Acid Assay Kit (Colorimetric/Fluorometric)에서 Fatty acid가 Acyl-CoA Synthetase에 의해 Acyl-CoA 유도체로 전환되며 Acyl-CoA Oxidase에 의해 산화되는데 이 과정에서 발생하는 H₂O₂가 Probe와 반응하여 흡광도 570 nm, 형광 Excitation/Emission = 535 nm/590 nm에서 측정되며 이를 통해 Fatty Acid 농도를 확인할 수 있습니다.

제품의 구성 및 보관 조건

Components	Size	Storage
Fatty Acid Assay Buffer	25 ml	-20°C
Fatty Acid Enzyme Mix (Lyophilized)	1 vial	
ACS Reagent (Lyophilized)	1 vial	
Enhancer	200 µl	
Fatty Acid Probe	200 µl	
Fatty Acid Standard (1 mM)	300 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
- ▶ Water bath or Heat block (37°C, 50°C, 90°C)
- ▶ 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.

Fatty Acid Assay Buffer

사용 후 4 °C 또는 -20 °C에 보관합니다.

Fatty Acid Enzyme Mix

Fatty Acid Assay Buffer 220 µl를 넣고 녹입니다. Solution 상태의 Enzyme Mix는 빠른 시간 내에 사용하시는 것을 권장합니다.

ACS Reagent

Fatty Acid Assay Buffer 220 µl를 넣고 녹입니다. 사용 후 -20 °C에 보관할 수 있으며 1개월 이내에 사용합니다.

Enhancer

사용 후 -20 °C에 보관할 수 있으며 2개월 이내에 사용합니다.

Fatty Acid Probe

사용 후 -20 °C에 보관할 수 있으며 1개월 이내에 사용합니다.

Sample type

- Tissues : Liver etc.
- Blood, Serum, Plasma and Other body fluids
- Cells, Growth media
- Food etc.

Sample preparation

Liquid

Liquid sample의 경우 바로 희석하여 실험에 사용할 수 있습니다. 만약 농도를 모르는 Sample의 경우 Standard curve range (1~10 nmol/well Colorimetric, 0.1~1 nmol/well Fluorometric)에 오도록 Sample을 다양한 희석 배율로 테스트합니다.

Blood

Blood의 경우, Anticoagulant 용액을 사용합니다. EDTA, Sodium citrate등 여러가지가 사용이 가능하지만 Heparin이 들어간 용액은 Interference 작용으로 인해 사용을 권하지 않습니다.

Tissue / Cell

Cells과 Tissue samples: 1 X 10⁶ Cells또는 10 mg의 Tissues를 200 µl의 용매 (1% Triton X-100 in pure-chloroform) 용액에 넣고 Homogenize 합니다. 그 후 5~10 min간 Centrifuge하여 유기 용매를 Microtube로 옮기고 50°C에서 30 min Air dry를 하여 Chloroform을 제거합니다. 그 후 Fatty Acid Assay Buffer 200 µl에 녹인 후 5 min 간 Vortexing 합니다.

Standard preparation

-20 °C 보관 시 Aqueous phase가 분리될 수 있으므로 사용 전 상온에서 충분히 녹인 후, 80 ~ 90 °C Water bath 또는 Heat block에서 1 min 간 또는 용액이 뿌옇게 될 때까지 Incubation 합니다. (Vial cap이 잘 닫혀 있는지 반드시 확인합니다.) 30 sec 동안 Vortexing 후 Cool down하면 용액이 투명해지는 것을 확인합니다. Heating & Vortexing을 두 번 더 반복 후 상온에서 충분히 Cool down 후에 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

1 mM Fatty Acid Standard를 아래 표와 같이 만듭니다.

STD No.	Vol. of 1 mM Fatty Acid Standard (μl) *	Assay Buffer (μl) *	Final STD Vol. in well (μl/well)	Final STD Amount in well (nmol/well)
Blank	0	50	50	0
2	2	48	50	2
3	4	46	50	4
4	6	44	50	6
5	8	42	50	8

* Single test 기준입니다. Duplicate 또는 Triplicate 이상을 권장합니다.

- ① 준비된 Sample 2~50 μl를 96-well Microplate에 분주 후 최종 Volume은 Fatty Acid Assay Buffer로 50 μl가 되도록 조정합니다.
- ② 준비된 Standard solution을 각 Well에 50 μl씩 분주합니다.
- ③ 각 well당 ACS Reagent를 2 μl씩 넣고 37 °C에서 30 min 동안 Incubation 합니다.
- ④ Reaction mix를 아래와 같이 만들어 준비합니다.

* 높은 Background를 갖는 Sample의 경우 Background control mix를 준비합니다.

Kit components (Colorimetric)	Mix	
	Reaction (50 μl/well)	Background Control (50 μl/well)
Assay Buffer	44 μl	46 μl
Enzyme Mix	2 μl	- μl
Enhancer	2 μl	2 μl
Probe	2 μl	2 μl

* 50 μl/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 μl씩 분주합니다.

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

- ⑥ 빛을 차단하여 37°C에서 30 min 동안 Incubation 후 Microplate reader로 흡광도 570 nm에서 측정합니다.

Fluorometric method

Standard preparation

1 mM standard 10 μ l와 Fatty Acid Assay Buffer 90 μ l를 혼합하여 100 μ M Standard solution을 만들어 아래표와 같이 만듭니다.

STD No.	Vol. of 100 μ M Fatty Acid Standard (μ l) *	Assay Buffer (μ l) *	Final STD Vol. in well (μ l/well)	Final STD Amount in well (nmol/well)
Blank	0	50	50	0
2	2	48	50	0.2
3	4	46	50	0.4
4	6	44	50	0.6
5	8	42	50	0.8
6	10	40	50	1.0

* Single test 기준입니다. Duplicate 또는 Triplicate 이상을 권장합니다.

- ① 준비된 Sample 2~50 μ l를 96-well Microplate에 분주 후 최종 Volume은 Fatty Acid Assay Buffer로 50 μ l가 되도록 조정합니다.
- ② 준비된 Standard solution을 각 Well에 50 μ l씩 분주합니다.
- ③ 각 well당 ACS Reagent를 2 μ l씩 넣고 37 °C에서 30 min 동안 Incubation 합니다.
- 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	45.6 μ l	47.6 μ l
Enzyme Mix	2 μ l	- μ l
Enhancer	2 μ l	2 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)

- 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 빛을 차단하여 37°C에서 30 min 동안 Incubation 후 Fluorometric microplate reader로 Excitation/Emission = 535 nm/590 nm 에서 측정합니다.

결과 분석

- **Palmitic acid molecular weight: 256.42 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 뺍니다.

- Standard curve에 Sample의 OD 값을 대입하여 구한 Palmitic acid 의 양으로 다음 식을 이용하여 Sample 내 Palmitic acid 의 농도를 구합니다.

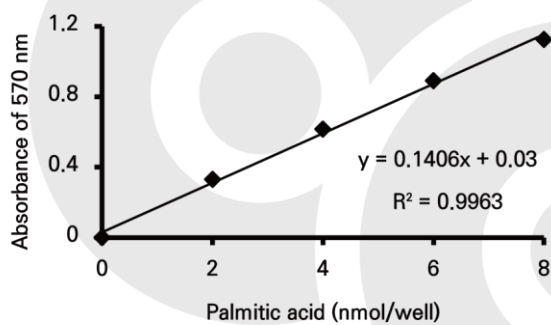
$$C \text{ (nmol/}\mu\text{l or umol/ml or mM)} = B/V \times D$$

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

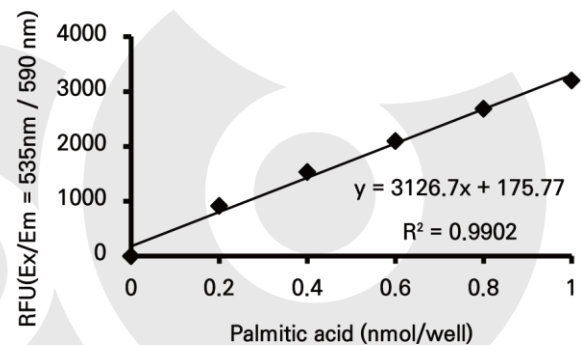
B : 측정 Well 의 Palmitic acid 양 (nmol)

V : Well 에 분주한 Sample 의 Volume (μ l)

D : Sample 희석 배율



Palmitic acid standard curve (Colorimetric)



Palmitic acid standard curve (Fluorometric)

Related products

- BM-CDL-100	PicoSens™ HDL, LDL/VLDL Assay Kit (Colorimetric/Fluorometric)
- BM-CHO-100	PicoSens™ Total Cholesterol Assay Kit (Colorimetric/Fluorometric)
- BM-TGR-100	PicoSens™ Triglyceride Assay Kit (Colorimetric/Fluorometric)
- BM-GLY-100	PicoSens™ Free Glycerol Assay Kit (Colorimetric/Fluorometric)
- BO-TBR-200	OxiTec™ TBARS Assay kit (Colorimetric)

*** 안전한 사용을 위해 유해물질 정보는 MSDS를 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