

(本试剂盒仅供体外研究使用，不用于临床诊断!)

产品货号: E-BC-K1100-M

产品规格: 96T(80 samples)

检测仪器: 酶标仪(450 nm)

Elabscience® 甲酸盐比色法试剂盒

Formate Colorimetric Assay Kit

使用前请仔细阅读说明书。如果有任何问题，请通过以下方式联系我们：

电话：400-999-2100

邮箱：biochemical@elabscience.cn

网址：www.elabscience.cn

具体保质期请见试剂盒外包装标签。请在保质期内使用试剂盒。

联系时请提供产品批号(见试剂盒标签)，以便我们更高效地为您服务。

用途

本试剂盒适用于检测动物组织样本及血清(浆)等液体样本中甲酸盐的含量。

检测原理

甲酸脱氢酶(FDH)能够催化甲酸和 NAD^+ 反应产生NADH, NADH在PMS作用下, 将电子传递给WST-8, 生产黄色的产物, 其在450 nm处有特征吸收峰。样本中自身存在的NAD(P)H会产生一定的背景干扰, 因此在测定过程中需要设定对照孔排除这种干扰。

提供试剂和物品

编号	名称	规格 (Size)(96 T)	保存方式 (Storage)
试剂一 (Reagent 1)	提取液 (Extracting Solution)	60 mL×2 瓶	-20°C 保存 6 个月
试剂二 (Reagent 2)	底物 A (Substrate A)	粉剂×2 支	-20°C 避光 保存 6 个月
试剂三 (Reagent 3)	底物 B (Substrate B)	粉剂×1 支	-20°C 避光 保存 6 个月
试剂四 (Reagent 4)	显色剂 (Chromogenic Agent)	1.5 mL×2 支	-20°C 避光 保存 6 个月
试剂五 (Reagent 5)	10 mmol/L 标准品 (10 mmol/L Standard)	1.0 mL×1 支	-20°C 保存 6 个月
	96 孔酶标板	1 板	
	96 孔覆膜	2 张	
	样本位置标记表	1 张	

说明: 试剂严格按上表中的保存条件保存, 不同测试盒中的试剂不能混用。

对于体积较少的试剂, 使用前请先离心, 以免量取不到足够量的试剂。

所需自备物品

仪器：酶标仪(450 nm)

试剂准备

① 检测前，试剂盒中的试剂平衡至室温。

② 试剂二工作液的配制：

取一支试剂二粉剂用0.17 mL试剂一充分溶解，临用前配制，于冰盒上取用，-20°C避光可保存7天。

③ 试剂三工作液的配制：

取一支试剂三粉剂用0.3 mL的试剂一充分溶解，临用前配制，于冰盒上取用，-20°C避光可保存7天。

④ 测定工作液的配制：

按照试剂一：试剂二工作液：试剂三工作液：试剂四 = 8：1：1：10的体积比混匀，按需要现配现用，避光保存。

⑤ 不同浓度标准品的稀释：

编号	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧
标准品浓度($\mu\text{mol/L}$)	0	100	200	300	400	500	600	800
10 mmol/L 标准品(μL)	0	10	20	30	40	50	60	80
双蒸水(μL)	1000	990	980	970	960	950	940	920

样本准备

① 样本处理

血清血浆等液体样本:用 10 KD 超滤管进行超滤,12000 ×g 离心 10 min,超滤后取滤液进行测定。

组织样本:常规匀浆处理(匀浆介质为试剂一),匀浆后用 10 KD 超滤管进行超滤,12000 ×g 离心 10 min,超滤后取滤液进行测定。

② 样本的稀释

在正式检测前,需选择2-3个预期差异大的样本稀释成不同浓度进行预实验,根据预实验的结果,结合本试剂盒的线性范围:8.20-800 μmol/L,请参考下表稀释(仅供参考):

样本	稀释倍数	样本	稀释倍数
人血清	不稀释	大鼠血浆	不稀释
狗血清	不稀释	10%大鼠肝组织	不稀释
小鼠血清	不稀释	10%大鼠肾组织	不稀释
马血清	不稀释	10%大鼠脾组织	不稀释
猪血清	不稀释	10%大鼠脑组织	不稀释

注:稀释液为试剂一。

实验关键点

- ① 试剂一取用时应倒出部分,再取用,避免试剂污染。
- ② 样本加入板孔中时应触底加入。

操作步骤

- ① 测定孔：向酶标板对应的测定孔中加入 50 μL 的待测样本；
标准孔：向酶标板对应的标准孔中加入 50 μL 不同浓度的标准品溶液；
- ② 向步骤①中各孔分别加入 50 μL 的测定工作液；
- ③ 酶标仪上振板 5 s，然后放入 37°C 恒温箱中，孵育 30 min，于波长 450 nm 处测定各孔 OD 值。
(注：随着孵育时间延长，显色会加深，在保证样本正常显色的情况下，尽量使标准曲线最高点的 OD 值处于 1.5-2.0 的范围内)

操作表

	标准孔	测定孔
待测样本(μL)	--	50
不同浓度标准品(μL)	50	--
测定工作液(μL)	50	50
酶标仪上振板 5 s，然后放入 37°C 恒温箱中，孵育 30 min，于波长 450 nm 处测定各孔 OD 值。		

结果计算

标准品拟合曲线: $y = ax + b$

血清(浆)、尿液等液体样本中甲酸盐含量的计算:

$$\text{甲酸盐含量} \begin{matrix} (\mu\text{mol/L}) \end{matrix} = (\Delta A - b) \div a \times f$$

组织样本中甲酸盐含量的计算:

$$\text{甲酸盐含量} \begin{matrix} (\mu\text{mol/g 组织鲜重}) \end{matrix} = (\Delta A - b) \div a \times f \times V \div W$$

注解:

y: 标准品 OD 值-空白 OD 值(标准品浓度为 0 时的 OD 值)

x: 标准品的浓度

a: 标曲的斜率

b: 标曲的截距

ΔA : 样本测定 OD 值-空白 OD 值 (标准品浓度为 0 的 OD 值)

f: 加入检测体系前样本的稀释倍数

V: 组织匀浆过程中提取液的体积(0.9 mL = 0.0009 L)

W: 样本质量(0.1 g)

附录1 关键数据

1. 技术参数

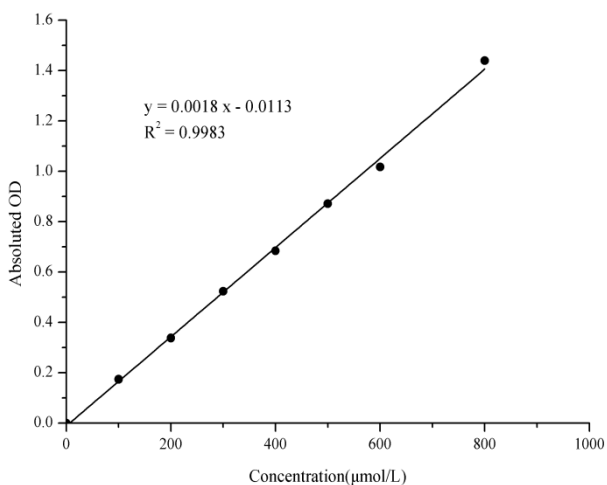
检测范围	8.20-800 $\mu\text{mol/L}$	平均批间差	3.9 %
灵敏度	8.20 $\mu\text{mol/L}$	平均批内差	3.3 %
平均回收率	100 %		

2. 标准曲线(数据仅供参考)

①不同浓度标准品加样量50 μL , 按照操作步骤进行实验, OD值如下表所示:

标准品浓度 ($\mu\text{mol/L}$)	0	100	200	300	400	500	600	800
OD 值	0.157	0.330	0.506	0.686	0.836	1.050	1.178	1.597
	0.150	0.324	0.477	0.668	0.839	1.000	1.163	1.589
平均 OD 值	0.154	0.327	0.492	0.677	0.838	1.025	1.171	1.593
绝对 OD 值	0.000	0.174	0.338	0.524	0.684	0.872	1.017	1.440

②绘制标曲(如下图):



附录2 实例分析

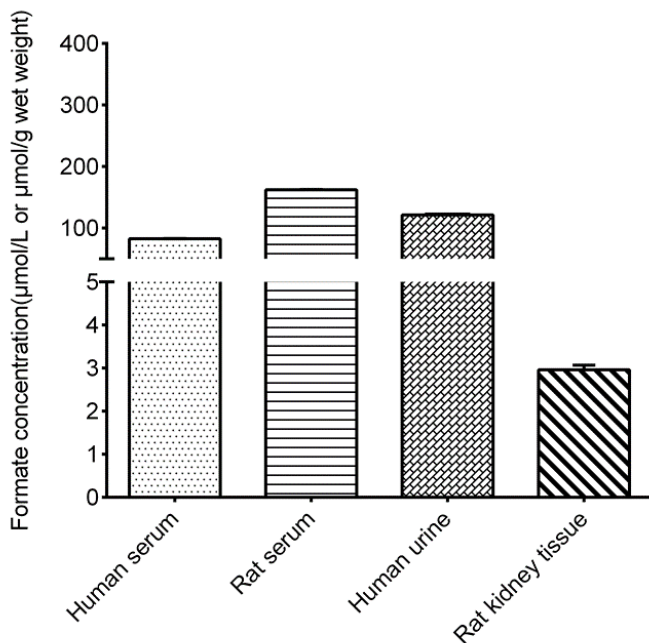
例如检测人血清(数据仅供参考):

取50 μL 人血清按说明书操作检测, 结果如下: 标准曲线: $y = 0.0019x - 0.0017$, 测定孔平均OD值为0.422, 空白孔平均OD值为0.266, 则 $\Delta A = 0.422 - 0.266 = 0.156$, 计算结果为:

$$\text{甲酸盐含量} = (0.156 + 0.0017) \div 0.0019 = 83 \mu\text{mol/L}$$

($\mu\text{mol/L}$)

按说明书操作, 测定人血清(加样量50 μL)、大鼠血清(加样量50 μL)、人尿液(加样量50 μL)和10%大鼠肾组织(加样量50 μL)中的甲酸盐含量(如下图):



附录3 问题答疑

问题	可能原因	建议解决方案
测定时酶标板孔中出现浑浊	样本处理中未能使上清液酸碱度趋于中性	检查实验操作,上清液是否已用碱试剂中和
样本测定值高于文献值范围	样本自身含量高出于正常水平	取不同批次样本,重新测定
ΔA 值过小或 ΔA 值为负数	样本自身含量过低	可选用超滤管过滤样本后直接测定

声明

1. 试剂盒仅供研究使用,如将其用于临床诊断或任何其他用途,我公司将不对因此产生的问题负责,亦不承担任何法律责任。
2. 实验前请仔细阅读说明书并调整好仪器,严格按照说明书进行实验。
3. 实验中请穿着实验服并戴乳胶手套做好防护工作。
4. 试剂盒检测范围不等同于样本中待测物的浓度范围。如果样品中待测物浓度过高或过低,请对样本做适当的稀释或浓缩。
5. 若所检样本不在说明书所列样本类型之中,建议先做预实验验证其检测有效性。
6. 最终的实验结果与试剂的有效性、实验者的相关操作以及实验环境等因素密切相关。本公司只对试剂盒本身负责,不对因使用试剂盒所造成的样本消耗负责,使用前请充分考虑样本可能的使用量,预留充足的样本。

附录4 客户发表文献

1. Du S, Zhou N, Xie G, et al. Surface-engineered triboelectric nanogenerator patches with drug loading and electrical stimulation capabilities: Toward promoting infected wounds healing[J]. *Nano Energy*, 2021, 85:106004. IF:17.087
2. Bartolini D, Arato I, Mancuso F, et al. Melatonin modulates Nrf2 activity to protect porcine pre-pubertal Sertoli cells from the abnormal H₂O₂ generation and reductive stress effects of cadmium. *J Pineal Res.* 2022;73 (1):e12806. IF:13.007
3. Yang Z, Wang J, Ai S, et al. Self-generating oxygen enhanced mitochondrion-targeted photodynamic therapy for tumor treatment with hypoxia scavenging[J]. *Theranostics*, 2019, 9(23): 6809. IF:11.556
4. Wan Q, Cao R, Wen G, et al. Sequential use of UV-LEDs irradiation and chlorine to disinfect waterborne fungal spores: Efficiency, mechanism and photoreactivation[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2022, 423:127102-. IF:10.588
5. Tian J, Wang L, Hui S, et al. Cadmium accumulation regulated by a rice heavy-metal importer is harmful for host plant and leaf bacteria. *J Adv Res.* 2022. IF:10.479
6. Jg A, Jie S B, Jy B, et al. Comparative toxicity reduction potential of UV/sodium percarbonate and UV/hydrogen peroxide treatments for bisphenol A in water: An integrated analysis using chemical, computational, biological, and metabolomic approaches[J]. *Water Research*, 2020, 190. IF:9.702
7. Yang X X, Xu X, Wang M F, et al. A nanoreactor boosts chemodynamic therapy and ferroptosis for synergistic cancer therapy using molecular amplifier dihydroartemisinin[J]. *Journal of Nanobiotechnology*, 2022, 20(1):1-19. IF:9.464
8. Liu Z, Liu X, Yang Q, et al. Neutrophil membrane-enveloped nanoparticles for the amelioration of renal ischemia-reperfusion injury in mice[J]. *Acta Biomaterialia*, 2020, 104: 158-166. IF:8.947
9. Huang S, Le H, Hong G, et al. An all-in-one biomimetic iron-small interfering RNA nanoplatfrom induces ferroptosis for cancer therapy. *Acta Biomater.* 2022;148:244-257. IF:8.291
10. Alharbi YM, Sakr SS, Albarrak SM, et al. Antioxidative, Antidiabetic, and Hypolipidemic Properties of Probiotic-Enriched Fermented Camel Milk Combined with *Salvia officinalis* Leaves Hydroalcoholic Extract in Streptozotocin-Induced Diabetes in Rats. *Antioxidants (Basel)*. 2022;11 (4):. IF:7.675

11. Wang H, Huang Q, Zhang Z, et al. Transient post-operative overexpression of CXCR2 on monocytes of traumatic brain injury patients drives monocyte chemotaxis toward cerebrospinal fluid and enhances monocyte-mediated immunogenic cell death of neurons in vitro[J]. *Journal of Neuroinflammation*, 2022. IF:7.573
12. Liu P, Yin Z, Chen M, et al. Cytotoxicity of adducts formed between quercetin and methylglyoxal in PC-12 cells[J]. *Food Chemistry*, 2021, 352(2):129424. IF:7.514
13. Adhikari B, Adhikari M, Ghimire B, et al. Cold plasma seed priming modulates growth, redox homeostasis and stress response by inducing reactive species in tomato (*Solanum lycopersicum*)[J]. *Free Radical Biology and Medicine*, 2020, 156: 57-69. IF:7.376
14. Zhao X, Wang C, Dai S, et al. Quercetin Protects Ethanol-Induced Hepatocyte Pyroptosis via Scavenging Mitochondrial ROS and Promoting PGC-1 α -Regulated Mitochondrial Homeostasis in L02 Cells. *Oxid Med Cell Longev*. 2022;2022:4591134. IF:7.31
15. Chagas TQ, Freitas ÍN, Montalvão MF, Nobrega RH, Machado MRF, Charlie-Silva I, Araújo APDC, Guimarães ATB, Alvarez TGDS, Malafaia G. Multiple endpoints of polylactic acid biomicroplastic toxicity in adult zebrafish (*Danio rerio*)[J]. *Chemosphere*. 2021 Aug;277:130279. IF:7.086
16. Mlindeli Gamede, Lindokuhle Mabuza, Phikelelani Ngubane, et al. Preventing the onset of diabetes-induced chronic kidney disease during prediabetes: The effects of oleanolic acid on selected markers of chronic kidney disease in a diet-induced prediabetic rat model[J]. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2021 Jul;139:111570. IF:6.529
17. Yang H, Zhu Y, Ye Y, et al. Nitric oxide protects against cochlear hair cell damage and noise-induced hearing loss through glucose metabolic reprogramming.[J]. *Free radical biology & medicine*, 2021. IF:6.525
18. Rao M J, Xu Y, Tang X, et al. CsCYT75B1, a Citrus CYTOCHROME P450 Gene, Is Involved in Accumulation of Antioxidant Flavonoids and Induces Drought Tolerance in Transgenic Arabidopsis[J]. *Antioxidants & Redox Signaling*, 2020, 9(2):161. IF:6.313
19. Liou G G, Hsieh C C, Lee Y J, et al. N-Acetyl Cysteine Overdose Inducing Hepatic Steatosis and Systemic Inflammation in Both Propacetamol-Induced Hepatotoxic and Normal Mice[J]. *Antioxidants*, 2021, 10(3):442. IF:6.312
20. Wang Y, Chi H, Xu F, et al. Cadmium chloride-induced apoptosis of HK-2 cells via interfering with mitochondrial respiratory chain[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2022, 236:113494-. IF:6.233
21. Obaid QA, Al-Shammari AM, Khudair KK. Glucose Deprivation Induced by Acarbose

- and Oncolytic Newcastle Disease Virus Promote Metabolic Oxidative Stress and Cell Death in a Breast Cancer Model. *Front Mol Biosci.* 2022;9:816510. IF:6.113
22. Abdel-Wahab BA, Walbi IA, Albarqi HA, Ali FEM, Hassanein EHM. Roflumilast protects from cisplatin-induced testicular toxicity in male rats and enhances its cytotoxicity in prostate cancer cell line. Role of NF- κ B-p65, cAMP/PKA and Nrf2/HO-1, NQO1 signaling[J]. *Food Chem Toxicol.* 2021 May;151:112133. IF:6.023
 23. Aljutaily T. Evaluating the Nutritional and Immune Potentiating Characteristics of Unfermented and Fermented Turmeric Camel Milk in Cyclophosphamide-Induced Immunosuppression in Rats. *Antioxidants (Basel).* 2022;11 (4):. IF:5.952
 24. Jabbari N, Nawaz M, Rezaie J. Ionizing Radiation Increases the Activity of Exosomal Secretory Pathway in MCF-7 Human Breast Cancer Cells: A Possible Way to Communicate Resistance against Radiotherapy[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2019, 20(15):3649-. IF:5.923
 25. Shanmugarajan D, Girish C, Harivenkatesh N, et al. Antihypertensive and pleiotropic effects of *Phyllanthus emblica* extract as an add-on therapy in patients with essential hypertension—A randomized double-blind placebo-controlled trial[J]. *Phytotherapy Research*, 2021. IF:5.878
 26. Marzocco S, Fazeli G, Di Micco L, et al. Supplementation of Short-Chain Fatty Acid, Sodium Propionate, in Patients on Maintenance Hemodialysis: Beneficial Effects on Inflammatory Parameters and Gut-Derived Uremic Toxins, A Pilot Study (PLAN Study)[J]. *Journal of Clinical Medicine*, 2018. IF:5.688
 27. Peng J, Pan J, Mo J, et al. MPO/HOCl Facilitates Apoptosis and Ferroptosis in the SOD1 G93A Motor Neuron of Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Oxid Med Cell Longev.* 2022;2022:8217663. IF:5.604
 28. Treadmill Exercise Alleviates Brain Iron Dyshomeostasis Accelerating Neuronal Amyloid- β Production, Neuronal Cell Death, and Cognitive Impairment in Transgenic Mice Model of Alzheimer's Disease[J]. *Molecular neurobiology*, 2021, 58(7):3208-3223. IF:5.59
 29. Aboulhoda, B. E., Rashed, L. A., Ahmed, H., et al. Hydrogen sulfide and mesenchymal stem cells-extracted microvesicles attenuate LPS-induced Alzheimer's disease[J]. *Journal of Cellular Physiology*, 2021, 236(8):5994-6010 IF:5.546