

## 酢酸

## F-キット(148261)とE-キット E1226 および E8226 との比較

## 1. 概要

製品	F-キット	E-キット	E-キット Liquid																															
製品番号	148 261	E1226	E8226																															
試薬容量	33 テスト	32 テスト	50 テスト																															
測定原理	アセチル CoA 合成酵素 (ACS)、L-リンゴ酸脱水素酵素 (L-MDH)、クエン酸合成酵素(CS) を用いた酵素反応 $Acetate + ATP + CoA \xrightarrow{ACS} Acetyl-CoA + AMP + PPi$ $Acetyl-CoA + oxaloacetate + H_2O \xrightarrow{CS} citrate + CoA$ $L-Malate + NAD^+ \xleftarrow{L-MDH} oxaloacetate + NADH + H^+$		酢酸キナーゼ (AK)、ADP依存性ヘキソキナーゼ (ADP-HKP)、グルコース-6-リン酸脱水素酵素 (G6P-DH) を用いた酵素法 (下記参照)																															
定量値の計算	ランベルト・ベールの法則により、エンドポイントの吸光度から定量値を求める (*ご希望の方にExcelテンプレートを提供します)		検量線を作成して定量値を求める 3次多項式近似 (x: 吸光度、y: 濃度) (*ご希望の方にExcelテンプレートを提供します)																															
試薬	<ul style="list-style-type: none"> <li>Vial 1 = 緩衝液 (調整済み)</li> <li>Vial 2 = ATP, CoA, NAD (凍結乾燥品)</li> <li>Vial 3 = L-MDH, CS (溶液)</li> <li>Vial 4 = ACS (凍結乾燥品)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Vial 1 = 緩衝液 (調整済み)</li> <li>Vial 2 = ATP, CoA, NAD (凍結乾燥品)</li> <li>Vial 3 = L-MDH, CS (溶液)</li> <li>Vial 4 = ACS (溶液)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>R1 = 緩衝液, NAD (50 ml x 2)</li> <li>R2 = AK, ADP, G6P-DH (12.5 ml x 2)</li> <li>4濃度の標準液 (0.02, 0.1, 0.3, 1.3 g/l)</li> </ul> 																															
調製後の試薬の安定性	<ul style="list-style-type: none"> <li>Vial 2 = 4 週間</li> <li>Vial 4 = 5 日間 (3 本 x 11テスト)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Vial 2 = 4 週間</li> <li>Vial 4 は液状で安定</li> </ul>	すべての試薬は調整済みの溶液で、開封後も安定																															
コントロール	コントロールはキットに含まれる	コントロールは別売 <ul style="list-style-type: none"> <li>E8460 マルチ有機酸スタンダード</li> </ul>	コントロールは別売 <ul style="list-style-type: none"> <li>E8460 マルチ有機酸スタンダード</li> </ul>																															
測定手順 (標準法)	<table border="1"> <thead> <tr> <th>ステップ</th> <th>サンプル (またはブランク)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Vial 1</td> <td>1.000 mL</td> </tr> <tr> <td>Vial 2</td> <td>0.200 mL</td> </tr> <tr> <td>サンプル (または水)</td> <td>0.100 mL</td> </tr> <tr> <td>水</td> <td>1.900 mL</td> </tr> <tr> <td>インキュベーション 3分 吸光度(A<sub>0</sub>)測定</td> <td></td> </tr> <tr> <td>Vial 3</td> <td>0.010 mL</td> </tr> <tr> <td>インキュベーション 15分 吸光度(A<sub>1</sub>)測定</td> <td></td> </tr> <tr> <td>Vial 4</td> <td>0.010 mL</td> </tr> <tr> <td>インキュベーション 15分 吸光度(A<sub>2</sub>)測定</td> <td></td> </tr> </tbody> </table>	ステップ	サンプル (またはブランク)	Vial 1	1.000 mL	Vial 2	0.200 mL	サンプル (または水)	0.100 mL	水	1.900 mL	インキュベーション 3分 吸光度(A <sub>0</sub> )測定		Vial 3	0.010 mL	インキュベーション 15分 吸光度(A <sub>1</sub> )測定		Vial 4	0.010 mL	インキュベーション 15分 吸光度(A <sub>2</sub> )測定		<table border="1"> <thead> <tr> <th>ステップ</th> <th>サンプル (またはブランク)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>R1</td> <td>2.000 mL</td> </tr> <tr> <td>サンプル (または水)</td> <td>0.100 mL</td> </tr> <tr> <td>インキュベーション 3分 吸光度(A<sub>1</sub>)測定</td> <td></td> </tr> <tr> <td>R2</td> <td>0.500 mL</td> </tr> <tr> <td>インキュベーション 15分 吸光度(A<sub>2</sub>)測定</td> <td></td> </tr> </tbody> </table> <p>標準法 (v=0.1mL) での            測定範囲 (推奨) : 0.02 - 1.3 g/L            LoD : 2.5 mg/L、LoQ : 4.5 mg/L</p>	ステップ	サンプル (またはブランク)	R1	2.000 mL	サンプル (または水)	0.100 mL	インキュベーション 3分 吸光度(A <sub>1</sub> )測定		R2	0.500 mL	インキュベーション 15分 吸光度(A <sub>2</sub> )測定	
ステップ	サンプル (またはブランク)																																	
Vial 1	1.000 mL																																	
Vial 2	0.200 mL																																	
サンプル (または水)	0.100 mL																																	
水	1.900 mL																																	
インキュベーション 3分 吸光度(A <sub>0</sub> )測定																																		
Vial 3	0.010 mL																																	
インキュベーション 15分 吸光度(A <sub>1</sub> )測定																																		
Vial 4	0.010 mL																																	
インキュベーション 15分 吸光度(A <sub>2</sub> )測定																																		
ステップ	サンプル (またはブランク)																																	
R1	2.000 mL																																	
サンプル (または水)	0.100 mL																																	
インキュベーション 3分 吸光度(A <sub>1</sub> )測定																																		
R2	0.500 mL																																	
インキュベーション 15分 吸光度(A <sub>2</sub> )測定																																		
直線性	→ 300 mg/L (試料 = 0.100 mL)		→ 300 mg/L (試料 = 0.100 mL)																															
LoD および LoQ	<table border="1"> <thead> <tr> <th>ランベルト・ベールより算出</th> <th>F-キット / E1226</th> <th>E8226</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>LoD (v = 2 mL, ΔA = 0.010)</td> <td>0.15 mg/L</td> <td>&lt; 0.10 mg/L</td> </tr> <tr> <td>LoQ (v = 0.5 mL, ΔA = 0.050)</td> <td>3.1 mg/L</td> <td>2.4 mg/L</td> </tr> </tbody> </table>	ランベルト・ベールより算出	F-キット / E1226	E8226	LoD (v = 2 mL, ΔA = 0.010)	0.15 mg/L	< 0.10 mg/L	LoQ (v = 0.5 mL, ΔA = 0.050)	3.1 mg/L	2.4 mg/L																								
ランベルト・ベールより算出	F-キット / E1226	E8226																																
LoD (v = 2 mL, ΔA = 0.010)	0.15 mg/L	< 0.10 mg/L																																
LoQ (v = 0.5 mL, ΔA = 0.050)	3.1 mg/L	2.4 mg/L																																

## 酵素反応系 E8226:

 $Acetate + ATP \xrightarrow{AK} Acetyl\ phosphate + ADP$ 
 $ADP + D-Glucose \xrightarrow{ADP-HKP} D-Glucose-6-Phosphate + AMP$ 
 $D-Glucose-6-Phosphate + NAD^+ \xrightarrow{G6P-DH} 6-Phosphoglucono-\delta-lactone + NADH + H^+$

## 酢酸測定における F-キットとE-キット Liquid (E8226) の比較

### 2. E-キットLiquid酢酸 (E8226)のF-キットに対する評価

#### a) ラボでの評価手順

E-キットLiquidのバリデーションを行う場合、以下の手順にしたがってください：

- 同一の試料をF-キット酢酸とE-キットliquid酢酸 (E8226、50テスト) を使って併行して測定する。
- 回収率を求めるには E-キットLiquidマルチ有機酸スタンダード (低濃度) (E8460)を使用する。
- ラボで定めたQCサンプルがある場合、それを使って回収率を比較する。
- ルーチン測定している試料を対象に、50テストを使い切るまで両方のキットで測定する (方法間の比較)。
- 試料の前処理はF-キットで測定するときの方法で行い、調製した同一の試料を両方のキットで測定する。(試料量は100 $\mu$ L)
- 試料中での安定性による影響を避けるため、両キットによる測定は同時に行う。(特に、アセトアルデヒド、酢酸、アンモニア、アスコルビン酸、エタノール、亜硫酸は試料中の安定性が問題となる。)

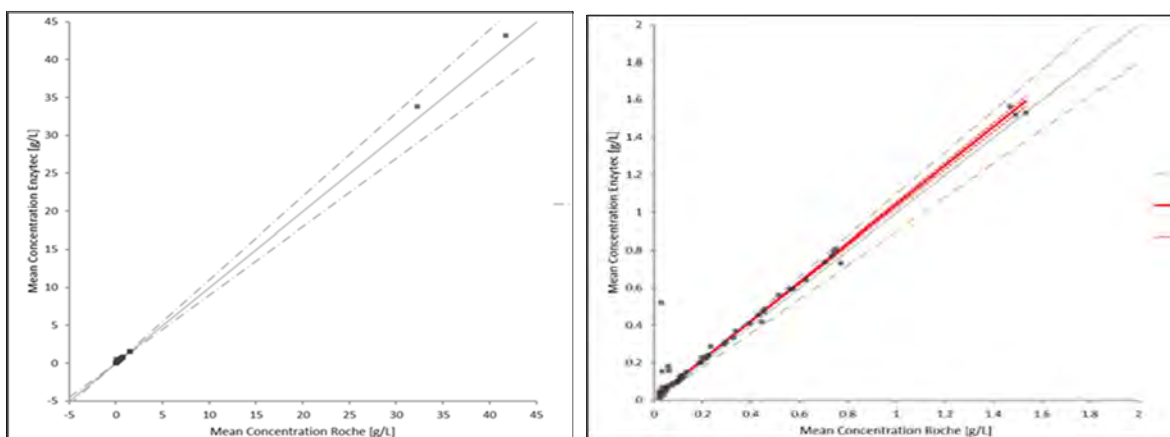
その他の項目 (直線性、精度、再現性など) のバリデーションを行う場合、さらにキットを追加する必要があります。

#### b) R-Biopharm社内における評価結果

##### E-キットLiquid マルチ有機酸スタンダード (低濃度) (E8460)を使って求めた回収率

- 回収率：100  $\pm$  5 %
- 注意：この回収率は E-キットLiquidの仕様に定められた値であり、すべてのロットで保証されます。

##### 方法間の比較



試料にワインとフルーツジュースを用いて相関性を求めました。相関係数は98.7% (Passing-Bablok fit) でした。なお、相関係数は測定する試料によって異なることがあります。

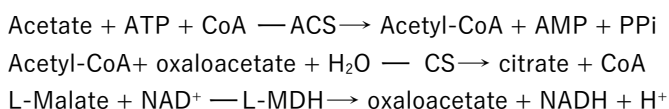
# RIDA® CUBE 酢酸 (RCS4226)

## RIDA® CUBE SCANによる自動測定

### 1. 概要

バッファーが入ったチューブに試料と基質を分注し、酵素が入ったキャップをしてRIDA CUBE SCANにセットすると、自動的に測定が始まり約15分で定量値が得られます。

アセチルCoA合成酵素 (ACS)、クエン酸合成酵素 (CS)、L-リンゴ酸脱水素酵素 (L-MDH)によって生成するNADHを340nmの吸光度で測定します。



### 2. 測定手順

RFIDカードを機器に置く		
試料情報をタブレットに入力 - 試料名 - 試料量 (20/100μl)		
チューブに分注する - 試料を20 /100 μl - 試薬2 を35μl	 20 μl or 100 μl	
チューブにキャップ (試薬3) をしたのち、機器にセットしてドアを閉める		
<b>測定範囲</b> ベーシック測定 (試料量 20 μl) : 25 ~750 mg/l 高感度測定 (試料量 100 μl) : 5 ~ 150 mg/l 注意 : 蒸留水を試料として試薬ブランクを測定し、測定値からブランクを差し引く必要がある場合があります。		

#### RIDA® CUBE 酢酸 (RCS4226) キット構成

- # 1: 試薬 1 (バッファー) 約700 μl、32本 (チューブ)
- # 2: 試薬 2 (NAD) 約1200 μl、1本
- # 3: 試薬 3 (酵素) 約150 μl、32本 (キャップ)
- # 4: RFIDカード、1枚



#### RIDA® CUBE SCAN 仕様

寸法 : 16 x 13.5 x 14.5 cm (H x W x D)  
 重量 : 2.2 kg  
 光源 : LED  
 波長選択 : フィルター  
 フォトメーター分解能 : 0.0001 ABS  
 再現性 : <1.5% CV at 1 OD  
 直線性 : 0.1000 – 3.0000 OD  
           ± 1.5% または ± 0.01 ODの良い方  
 温度制御 : 37°C ± 2°C  
 インターフェース : RS232, USB, Bluetooth  
 電源 : 12V DC, 2A