

Ферментный анализ

Сравнение тестов для определения D-глюконовой кислоты Roche и Enzytec™ Liquid

Арт. No. E8520

Обзор

| | Roche | Enzytec™ Liquid | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|--|--|---|--------------------------|--------------------|----------|--------------------------------|----------|------|----------|----------|----------|---------------------------------------|--|----------|----------|--|--|--|------|--------------------------|----|----------|--------------------------------|----------|---------------------------------------|--|----|----------|--|--|
| Артикул | 10 428 191 035 | E8520 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Количество тестов | 27 тестов (27 мл) | 50 тестов | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Принцип метода | Тест с глюконаткиназой (ГК) и 6-фосфоглюконатдегидрогеназой (6 PGDH) [см. ниже] | Тест с ГК, АДФ-зависимой гексокиназой (АДФ-НК) и глюкозо-6-фосфатдегидрогеназой (Г6Ф-ДГ) [см. ниже] | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Вычисление результатов | Метод представляет собой конечную реакцию, результаты которой рассчитываются по формуле Ламберта-Бера (таблица Excel доступна по запросу). | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Регистрация | Этот метод зарегистрирован ISO в § 64 (Германия) и SLMB (Швейцария). | Этот метод не зарегистрирован | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Реагенты | <ul style="list-style-type: none"> Флакон 1 = Буфер, НАДФ, АТФ (порошок) Флакон 2 = 6-PGDH (суспензия) Флакон 3 = GK (суспензия) | <ul style="list-style-type: none"> R1 = Буфер, НАДФ R2 = ADP-НК, G6P-DH, GK | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Стабильность после вскрытия | Флакон 1 = 4 недели | Все реагенты жидкие, готовые к использованию и стабильные после вскрытия. | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Контрольные образцы | Контроль качества не включен в набор | Контроль качества доступен к заказу отдельно (Multi-acid standard low (E8460)) | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Процедура | <table border="1"> <thead> <tr> <th>Шаги</th> <th>Образцы (или хол. проба)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Флакон 1 (Буфер 1)</td> <td>1.000 мл</td> </tr> <tr> <td>Образец (или H₂O)</td> <td>0.100 мл</td> </tr> <tr> <td>Вода</td> <td>1.900 мл</td> </tr> <tr> <td>Флакон 2</td> <td>0.020 мл</td> </tr> <tr> <td colspan="2">Инкуб. 3 мин, измерить A₁</td> </tr> <tr> <td>Флакон 3</td> <td>0.020 мл</td> </tr> <tr> <td colspan="2">Инкуб. 20 мин, измерить A₂</td> </tr> </tbody> </table> | Шаги | Образцы (или хол. проба) | Флакон 1 (Буфер 1) | 1.000 мл | Образец (или H ₂ O) | 0.100 мл | Вода | 1.900 мл | Флакон 2 | 0.020 мл | Инкуб. 3 мин, измерить A ₁ | | Флакон 3 | 0.020 мл | Инкуб. 20 мин, измерить A ₂ | | <table border="1"> <thead> <tr> <th>Шаги</th> <th>Образцы (или хол. проба)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>R1</td> <td>2.000 мл</td> </tr> <tr> <td>Образец (или H₂O)</td> <td>0.100 мл</td> </tr> <tr> <td colspan="2">Инкуб. 3 мин, измерить A₁</td> </tr> <tr> <td>R2</td> <td>0.500 мл</td> </tr> <tr> <td colspan="2">Инкуб. 10 мин, измерить A₂</td> </tr> </tbody> </table> | Шаги | Образцы (или хол. проба) | R1 | 2.000 мл | Образец (или H ₂ O) | 0.100 мл | Инкуб. 3 мин, измерить A ₁ | | R2 | 0.500 мл | Инкуб. 10 мин, измерить A ₂ | |
| Шаги | Образцы (или хол. проба) | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Флакон 1 (Буфер 1) | 1.000 мл | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Образец (или H ₂ O) | 0.100 мл | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Вода | 1.900 мл | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Флакон 2 | 0.020 мл | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Инкуб. 3 мин, измерить A ₁ | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Флакон 3 | 0.020 мл | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Инкуб. 20 мин, измерить A ₂ | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Шаги | Образцы (или хол. проба) | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| R1 | 2.000 мл | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Образец (или H ₂ O) | 0.100 мл | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Инкуб. 3 мин, измерить A ₁ | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| R2 | 0.500 мл | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Инкуб. 10 мин, измерить A ₂ | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Линейность | → 1.2 г/л (образец = 0.100 мл) | → 1.5 г/л (образец = 0.100 мл) | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Вычисления по ламберту-Беру: | <ul style="list-style-type: none"> 0.5 мг/л 9.5 мг/л | <ul style="list-style-type: none"> 0.5 мг/л 7.4 мг/л | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | Реальные LoD и LoQ были измерены только для Enzytec™ Liquid E8520 с использованием метода DIN 32645:2008-11 и образца 100 мкл (соответственно 1,4 и 2,5 мг/л). При увеличении объема пробы до 1000 мл эти пределы соответственно. 0,25 и 0,42 мг/л. | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |

Принцип метода Roche (производится НАДФН и измеряется при 340 нм):

- D-Глюконат + АТФ → GK → 6-фосфоглюконат + АДФ
- 6-PG + НАДФ⁺ → 6-PGDH → рибулоза-5-P + НАДФН + H⁺ + CO₂
- D-глюконо-δ-лактон — pH 10 → D-глюконат

Принцип тестирования для жидкости Enzytec™ (производится НАДН и измеряется при 340 нм):

- D-Глюконат + АТФ → GK → 6-фосфоглюконат + АДФ
- ADP + D-Глюкоза → АДФ-НК → D-глюкозо-6-фосфат + АМФ
- D-Глюкозо-6-фосфат + НАД⁺ → G6P-DH → D-глюконо-δ-лактон-6-фосфат + НАДН + H⁺

Ферментный анализ

Сравнение тестов для определения D-глюконовой кислоты Roche и Enzytec™ Liquid

Арт. No. E8520

Оценка Enzytec™ Liquid D-Gluconic acid (Арт. No. E8520) в сравнении с Roche

а) Программа оценки для лабораторий

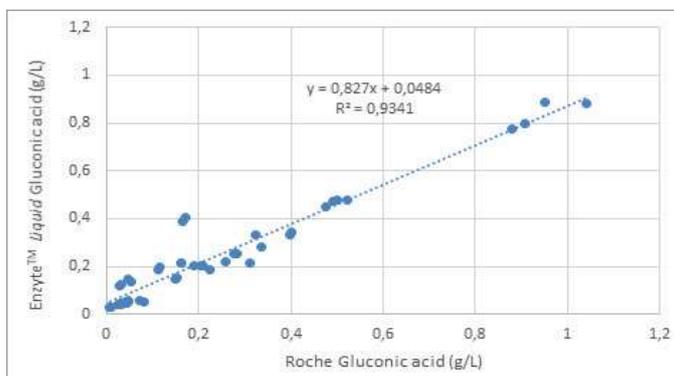
Мы предлагаем следующую программу оценки:

- Приобретите один набор Enzytec™ Liquid D-Gluconic acid (E8520, 50 тестов) и запускайте его параллельно с набором Roche.
- Для определения степени извлечения всегда используйте контрольный образец Enzytec™ Liquid Multi-acid с низким стандартом (E8460).
- Если возможно, выполните пробоподготовку контрольного образца и рассчитайте степень извлечения.
- Запустите стандартные образцы параллельно в обоих наборах для 50 тестов (сравнение методов).
- Сохраняйте ту же подготовку образца, что и для набора Roche, и используйте один и тот же флакон с раствором образца для обоих тестов (по 100 мкл каждый).
- Выполняйте два анализа одновременно, чтобы избежать прогрешностей, связанных со стабильностью образца (особенно для нестабильных ацетальдегида, уксусной кислоты, аммиака, аскорбиновой кислоты, этанола и сульфита).

Можно проверить больше валидационных показателей (например, линейность, прецизионность или воспроизводимость), но для этого потребуется больше наборов.

б) Результаты внутренней оценки R-Biopharm

- Экстрагируйте Enzytec™ Liquid Multi-acid standard low (E8460)
Степень извлечения $100 \pm 5 \%$
Примечание: это является частью спецификаций для всех тест-наборов Enzytec™ Liquid и проверяется для каждой произведенной партии.
- Сравнение методов



Сравнение этого метода проводилось с образцами вина и фруктового сока. Все точки близко выровнены вдоль линии корреляции, но в верхнем диапазоне значения Enzytec™ Liquid немного ниже, чем у Roche. Коэффициент корреляции между обоими методами составил 93 %. Корреляция будет варьироваться в зависимости от тестируемых образцов.