

(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-F067

产品规格：96T

检测仪器：荧光酶标仪、流式细胞仪、荧光显微镜

Elabscience®脂肪酸摄取荧光法测试盒

Fatty Acid Uptake Fluorometric 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细胞脂肪酸摄取的能力。

检测原理

脂肪酸(Fatty acid)是机体获得能量的重要来源之一。脂肪酸摄取能力与肥胖和糖尿病等疾病有相关，因此是治疗肥胖症、2型糖尿病和脂肪肝等疾病的重要靶点。活性亢进的癌细胞脂肪酸摄取能力较强，因此脂肪酸摄取能力也被作为癌症药物研发的重要指标，脂肪酸的通路也因被作为癌症药物研发的靶点之一而备受瞩目。

本试剂盒可通过便捷的荧光法检测细胞摄取脂肪酸能力。脂肪酸底物可以通过细胞膜上的脂肪酸转运蛋白进入细胞内，用荧光显微镜、荧光酶标仪、流式细胞仪等仪器检测荧光强度即可检测细胞摄取脂肪酸的能力。

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)	缓冲液 (Buffer)	50 mL×2 瓶	-20°C 保存 6 个月
试剂二 (Reagent 2)	10 mmol/L 底物溶液 (10 mmol/L Substrate Solution)	0.2 mL×1 支	-20°C 避光 保存 6 个月
	96 孔黑色酶标板	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：荧光酶标仪、流式细胞仪、荧光显微镜

试剂准备

① 检测前，试剂盒中的试剂平衡至25°C，试剂二可分装后-20°C避光保存，避免反复冻融。

② 试剂二工作液的配制：

按照试剂一：试剂二= 199: 1的比例稀释得到50 $\mu\text{mol/L}$ 试剂二工作液。现配现用，避光备用，一天内使用有效。

③ 试剂一和试剂二工作液在不同培养皿中每孔所需量：

	贴壁细胞				悬浮细胞
孔板	6孔板	24孔板	96孔板	35 mm 培养皿	1.5mL 离心管
试剂二工作液每孔所需量	1.5 mL/孔	0.3 mL/孔	0.1 mL/孔	1.5 mL/孔	0.5 mL/管
试剂一每孔所需量	1.5 mL/孔	0.3 mL/孔	0.1 mL/孔	1.5 mL/孔	0.5 mL/管

操作步骤

检测仪器部分参数设置	
荧光酶标仪	Excitation : 485 nm; Emission : 515 nm
流式细胞仪	Excitation: 488 nm FITC 滤光片
荧光显微镜	共聚焦显微镜: Ex: 488 nm, Em: 500-550 nm 普通荧光显微镜: GFP 或 FITC 滤光片

悬浮细胞

- ① 离心收集细胞，弃掉上清培养基，使用试剂一重悬，设置实验分组，建议设置阴性对照组，每组细胞个数不低于 5×10^4 个， $500 \times g$ 离心3 min，弃上清。
- ② 阴性对照组使用试剂一重悬细胞，脂肪酸摄取组使用试剂二工作液重悬细胞。
- ③ 37°C ，5% CO_2 培养箱内培养30 min(可根据细胞数和摄取程度调整孵育时间)。
- ④ $500 \times g$ 离心3 min，弃上清，各组加入试剂一洗涤细胞2次。
- ⑤ $500 \times g$ 离心3 min，弃上清，各组加入试剂一重悬细胞。
- ⑥ 荧光酶标仪检测：吸取0.1 mL的细胞悬液加入96孔黑色酶标板，荧光酶标仪设置激发波长485 nm，发射波长515 nm测定各孔荧光值。
流式细胞仪检测：上样量至少为 1×10^4 个细胞，流式细胞仪设置激发波长488 nm进行检测。
荧光显微镜检测：细胞重悬后转移至载体进行荧光显微镜进行检测，共聚焦显微镜：Ex: 488 nm, Em: 500-550 nm，普通荧光显微镜选择GFP或FITC滤光片。

贴壁细胞

- ① 将细胞播种至板孔中，建议设置阴性对照组，每组细胞接种密度不低于 1×10^5 个/mL，贴壁生长。
- ② 各组去除培养基，添加试剂一洗涤细胞 2 次，弃上清。
- ③ 阴性对照组去上清加入试剂一，脂肪酸摄取组去上清加入试剂二工作液， 37°C ， $5\% \text{CO}_2$ 培养箱内培养 30 min(可根据细胞数和摄取程度调整孵育时间)。
- ④ 去除上清后，各组加入试剂一洗涤细胞 2 次。
- ⑤ 荧光酶标仪检测：用细胞铲或胰酶剥离细胞后，离心弃上清，各组加入试剂一重悬细胞，吸取 0.1 mL 细胞悬液于 96 孔黑色酶标板板孔中，荧光酶标仪设置激发波长 485 nm，发射波长 515 nm 测定各孔荧光值。

流式细胞仪检测：用细胞铲或胰酶剥离细胞后，离心弃上清，各组加入试剂一重悬细胞，上样量至少为 1×10^4 个细胞，流式细胞仪设置激发波长 488 nm 进行检测。

荧光显微镜检测：加入试剂一后，进行荧光显微镜进行检测，或制成爬片观察。共聚焦显微镜：Ex: 488 nm，Em: 500-550 nm，普通荧光显微镜选择 GFP 或 FITC 滤光片。

附录1 关键数据

1. 技术参数

批间差	4.9-12.7%	批内差	1.6-3.2%
-----	-----------	-----	----------

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。

