（本试剂盒仅供体外研究使用，不用于临床诊断!）

产品货号：GBQ222

产品规格：48T(32 samples)/96T(80 samples)

检测仪器：酶标仪(535-575 nm)

Elabscience®脂肪分解比色法测试盒

Lipolysis 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细胞样本的脂肪分解的水平。

检测原理

脂肪分解（Lipolysis）是人体将脂肪储备转化为能量的过程，即储存在脂肪细胞内的脂肪在脂肪酶的作用下逐步水解，释放游离脂肪酸(Free fatty acid，FFA)和甘油(Glycerin，Gly)的过程。脂肪分解产生的甘油无法被细胞自行利用，需运输到肝脏进一步转化成能量。通过测定甘油的含量可以反映细胞样本脂肪分解的水平。

本试剂盒的检测原理为使细胞释放的甘油在酶的作用下产生过氧化氢，过氧化氢与酶和化学物质反应生成特定产物，该产物在 555 nm 处有最大吸收，OD 值在一定范围内与浓度呈正比。

本试剂盒检测细胞样本时，需测定总蛋白浓度，推荐使用 BCA 法（货号：GBQ162）

提供试剂和物品

编号	名称	规格 1 (Size 1)(48 T)	规格 2 (Size 2)(96 T)	保存方式 (Storage)
试剂一 (Reagent 1)	分析缓冲液 (Assay Buffer)	30 mL×1 瓶	55 mL×1 瓶	2-8℃ 保存 6 个月
试剂二 (Reagent 2)	基质液 (Matrix Solution)	9 mL×1 瓶	16.5 mL×1 瓶	2-8℃避光 保存 6 个月
试剂三 (Reagent 3)	显色剂 (Chromogenic Agent)	0.9 mL×1 支	1.65 mL×1 支	2-8℃避光 保存 6 个月
试剂四 (Reagent 4)	10 mmol/L 标准品 (10 mmol/L Standard)	0.24 mL×1 支	0.24 mL×1 支	2-8℃避光 保存 6 个月
	96 孔酶标板	48 孔×1 块	96 孔×1 块	无要求
	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(535-575 nm，最佳检测波长：555 nm)、涡旋混匀仪、恒温箱

试剂：生理盐水(0.9% NaCl)

试剂准备

① 检测前，试剂盒中的试剂平衡至25℃。

② 试剂三工作液的配制：

按试剂二：试剂三=10：1的比例配制，配制的溶液2-8℃避光保存3天。

③ 0.5 mmol/L标准品溶液的配制：

取50 μL试剂四，加入950 μL双蒸水稀释混匀，配制好的溶液2-8℃避光可保存一周。

④ 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 (mmol/L)	**0**	**0.1**	**0.2**	**0.25**	**0.3**	**0.35**	**0.4**	**0.5**
0.5 mmol/L 标准品 (μL)	0	40	80	100	120	140	160	200
双蒸水 (μL)	200	160	120	100	80	60	40	0

操作步骤

细胞样本：根据实验设计进行细胞培养或分化，确保细胞状态良好。去除细胞培养液，用试剂一轻轻清洗细胞两次，每次清洗后缓慢吸取试剂一。

① 加入适量试剂一，并轻轻吹打混匀。根据实验需要加入 1-2 μL 药物刺激，设置相应对照组。（试剂一只能维持细胞生长状态 8 h 以内，药物刺激时间如需更长，建议使用无血清培养基进行培养）。

② 培养孵育后收集细胞上清待测。

③ 标准孔：取 20 μL 不同浓度的标准品溶液加入到相应的酶标孔中。

测定孔：取 20 μL 各组中的细胞上清液，加入到相应的酶标孔中。

④ 向标准孔和测定孔加入 150 μL 试剂三工作液。

⑤ 25°C 孵育 10 min，使用酶标仪于 555 nm 处检测各孔 OD 值。

可收集细胞沉淀进行蛋白浓度测定，推荐使用 BCA 法(货号：E-BC-K318-M)。

结果计算

标准品拟合曲线： $y = ax + b$

细胞样本中脂肪分解计算公式：

$$\text{脂肪分解 (mmol/gprot)} = \frac{\Delta A - b}{a} \div C_{pr}$$

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：样本测定孔 OD 值-空白 OD 值(标准品浓度为 0 时的 OD 值)

C_{pr}：待测样本的蛋白浓度，gprot/L

附录1 关键数据

1. 技术参数

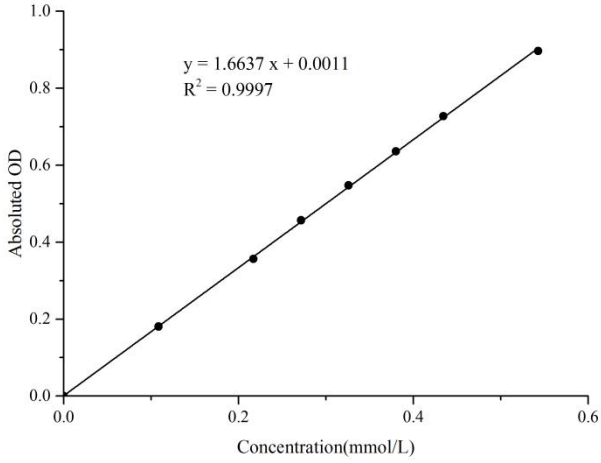
检测范围	0.005-0.543 mmol/L	**批间差**	1.6-2.5%
灵敏度	0.005 mmol/L	**批内差**	1.3-1.4%
加标回收率	98-100%		

2. 标准曲线(数据仅供参考)

① 不同浓度标准品加样量20 μL，按照操作步骤进行实验，OD值如下表所示：

标准品浓度 (mmol/L)	**0**	**0.1**	**0.2**	**0.25**	**0.3**	**0.35**	**0.4**	**0.5**
OD 值	0.146	0.329	0.504	0.597	0.691	0.782	0.871	1.045
	0.146	0.324	0.501	0.609	0.696	0.782	0.876	1.041
平均 OD 值	0.146	0.327	0.503	0.603	0.694	0.782	0.874	1.043
绝对 OD 值	0	0.181	0.357	0.457	0.548	0.636	0.728	0.897

② 绘制标曲(如下图)：



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。