

(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-K013-S

产品规格：50 assays(17 samples)/100 assays(42 samples)

检测仪器：紫外-可见光分光光度计（715 nm）

Elabscience®游离脂肪酸(NEFA/FFA)比色法测试盒
Non-esterified Free Fatty Acids (NEFA/FFA)
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的游离脂肪酸含量。

检测原理

在弱酸性条件下，游离脂肪酸与铜盐反应生成铜皂，在 715 nm 处有特征吸收峰，在一定范围内游离脂肪酸含量与显色程度呈线性关系，可计算出游离脂肪酸的含量。

提供试剂和物品

编号	名称	规格 1 (Size 1) (50 assays)	规格 2 (Size 2) (100 assays)	保存方式 (Storage)
试剂一 (Reagent 1)	抽提液 (Extracting Solution)	60 mL×2 瓶	60 mL×3 瓶	2-8℃ 保存 6 个月
试剂二 (Reagent 2)	10 mmol/L 标准品 (10 mmol/L Palmitic Acid Standard)	1.8 mL×1 支	1.8 mL×2 支	2-8℃ 保存 6 个月
试剂三 (Reagent 3)	对照液 (Control Solution)	14 mL×1 瓶	28 mL×1 瓶	2-8℃ 保存 6 个月
试剂四 (Reagent 4)	反应液 (Reaction Solution)	22.5 mL×1 瓶	45 mL×1 瓶	2-8℃ 保存 6 个月

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：紫外-可见光分光光度计（715 nm）、涡旋混匀仪、微量移液器（1000 μL ，200 μL ，100 μL ，10 μL ）。

耗材：枪头（1000 μL ，200 μL ，10 μL ）、EP 管（2 mL）、吸水纸、擦镜纸。

试剂准备

① 检测前，试剂盒中的试剂平衡至室温。

② 不同浓度标准品的稀释：

编号	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦
标准品浓度(mmol/L)	0	0.1	0.25	0.5	1.0	1.5	2.0
10 mmol/L 标准品(μL)	0	30	75	150	300	450	600
试剂一(μL)	3000	2970	2925	2850	2700	2550	2400

样本准备

① 样本处理

样本要求：必须采用新鲜样本，检测必须在24 h内完成

组织样本：取 0.020-1.0 g 新鲜组织块，用 2-8℃的 PBS (0.01 M, pH 7.4) 漂洗，去除血液，滤纸吸干，称重，放入匀浆容器中，按照重量 (g)：体积 (mL) =1: 12 的比例加入试剂一，进行匀浆，于 4℃，低温振荡器中震荡抽提 2 h，4℃，10000 × g 离心 10 min，取上清置于冰上待测。

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：0.05-2 mmol/L，请参考下表稀释(仅供参考)：

样本	稀释倍数	样本	稀释倍数
大鼠肝组织匀浆抽提液	1-3	大鼠肾组织匀浆抽提液	不稀释
大鼠心组织匀浆抽提液	不稀释	小鼠肝组织匀浆抽提液	1-3

注：稀释液为试剂一。

实验关键点

- ① 在进行组织样本处理时，离心后的上清液必须澄清。若有浑浊须将浑浊上清转移至新的离心管，再次离心。
- ② 试剂有刺激性气味，请在通风橱内操作。

操作步骤

- ① 标准管：取 1 mL 7 个不同浓度的标准品，分别加入 7 个 5 mL 的 EP 管中。
测定管和对照管：取 1 mL 待测样本，分别加入 2 个 5 mL EP 管中。
- ② 向步骤①中的标准管和测定管加入 0.5 mL 试剂四,对照管加入 0.5 mL 试剂三。
- ③ 涡旋充分震荡 5 min，室温静置 5 min。
- ④ 取 0.8 mL 上层液体于 1 mL 石英比色皿，波长 715 nm，试剂一调零，测定 OD 值。

操作表

	标准管	对照管	测定管
不同浓度的标准品(mL)	1.0		
待测样本(mL)		1.0	1.0
试剂三(mL)		0.5	
试剂四(mL)	0.5		0.5
涡旋充分震荡 5 min，室温静置 5 min，取上层液体 0.8 mL 于 1 mL 石英比色皿，波长 715 nm，试剂一调零，测定 OD 值。			

结果计算

标准品拟合曲线： $y = ax + b$

组织中 NEFA 含量计算公式：

$$\text{NEFA 含量} = (\Delta A_{715} - b) \div a \times \frac{V}{m} \times f$$

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

注解：

a：标曲斜率

b：标曲截距

y：标准品 OD 值-空白 OD 值(空白 OD 值为标准品浓度为 0 时的 OD 值)

x：吸光度对应的浓度

ΔA_{715} ：样本测定 OD 值-对照 OD 值

V：组织处理过程中加入试剂一的体积，建议 V 取 2.4 mL

m：组织的鲜重，建议 m 取 0.2 g

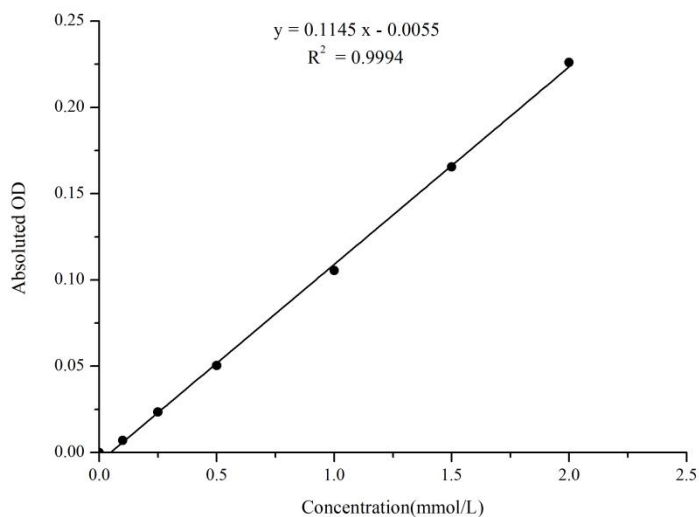
f：样本加入检测体系前的稀释倍数

附录1 关键数据

1. 技术参数

检测范围	0.05-2 mmol/L	平均批间差	6.1 %
灵敏度	0.05 mmol/L	平均批内差	2.3 %
平均回收率	100 %		

2. 标准曲线(数据仅供参考)



附录2 实例分析

例如检测大鼠肝脏组织(数据仅供参考):

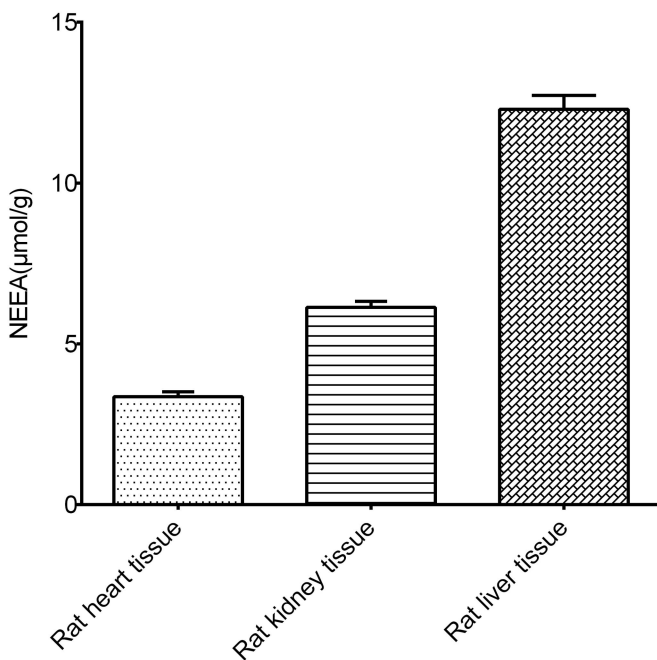
取0.2 g大鼠肝组织, 加入2.4 mL试剂一, 进行匀浆, 于4℃, 低温振荡器中震荡抽提3 h, 4℃, 2000 × g离心10 min, 取上清按操作表操作, 结果如下:

标准曲线: $y = 0.10882x - 0.001$, 测定管平均OD值为0.109, 对照管平均OD值为0.000, 计算结果为:

$$\text{NEFA 含量} = (0.109 + 0.001) \div 0.10882 \times 12 = 12.13 \mu\text{mol/g}$$

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

按照说明书操作, 测定大鼠心脏组织 (m=0.2 g, $V_3=2.4$ mL)、大鼠肾脏组织 (m=0.2 g, $V_3=2.4$ mL)、大鼠肝脏组织 (m=0.2 g, $V_3=2.4$ mL) 中的NEFA含量 (如下图):



附录3 问题答疑

问题	可能原因	建议解决方案
复孔差异大	未严格按照说明书操作	严格按照说明书操作
样本测不出值	样本中 NEFA 含量较低	降低试剂一用量或增加样本量，重新检测
	样本保存时间过长或者保存不当	取新鲜样本，重新检测
出现绿色沉淀	样本浓度太高 $>2\text{ mmol/L}$	选择适当稀释倍数，重新检测
	检测环境温度过低	在室内温度在 $25\text{-}30^{\circ}\text{C}$ 环境检测
读数数值低	用不恰当波长检测	选择正确的检测波长

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. Meng J J, Shen J W, Li G, et al. Light modulates glucose metabolism by a retina-hypothalamus-brown adipose tissue axis[J]. Cell, 2023, 186(2): 398-412. e17.
2. Richa Verma,Ming Fu,Guangdong Yang,Lingyun Wu,Rui Wang.Hydrogen Sulfide Promotes Adipocyte Differentiation, Hyperplasia, and Hypertrophy[J]. 2023(1):13.DOI:10.1016/j.eng.2022.09.010.
3. Schreyer E , Obringer C , Messaddeq N ,et al.PATAS, a First-in-Class Therapeutic Peptide Biologic, Improves Whole-Body Insulin Resistance and Associated Comorbidities In Vivo[J].Diabetes, 2022, 71(9):2034-2047.DOI:10.2337/db22-0058.
4. Mu Y, Luo L B, Huang R, et al. Cardiac-derived CTRP9 mediates the protection of empagliflozin against diabetes-induced male subfertility in mice[J]. Clinical Science, 2024, 138(21): 1421-1440.
5. Kamel M A .The Anti-Obesity Potential of Superparamagnetic Iron Oxide Nanoparticles against High-Fat Diet-Induced Obesity in Rats: Possible Involvement of Mitochondrial Biogenesis in the Adipose Tissues[J].Pharmaceutics, 2022, 14.DOI:10.3390/pharmaceutics14102134.

