（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-F082

产品规格：96T(40 samples)

检测仪器：荧光酶标仪(激发波长：340 nm 发射波长：440 nm)

Elabscience®脂肪酸酰胺水解酶(FAAH)荧光法测试盒

Fatty Acid Amide Hydrolase (FAAH) Activity 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动物组织及细胞中的脂肪酸酰胺水解酶(FAAH)的活力。

检测原理

脂肪酸酰胺水解酶(Fatty Acid Amide Hydrolase，FAAH)是一种膜结合蛋白，属于丝氨酸水解酶家族。FAAH 可水解许多重要的内源性脂肪酸酰胺，包括内源性大麻素(AEA）和棕榈酰乙醇酰胺(PEA)。FAAH 通过水解 AEA 和某些组织中的 2-花生四烯醇甘油，在控制大麻素信号传导中起关键作用。

检测原理：FAAH 特异性切割底物，荧光基团发出荧光，在激发波长 340 nm，发射波长 440 nm 处检测荧光。由于 FAAH 是一种丝氨酸蛋白，因此试剂盒中使用 FAAH 特异性抑制剂抑制酶活，排除非特异性酶活的影响。

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 Solution)	55 mL×1 瓶	-20 ℃ 避光 保存 6 个月
试剂二 (Reagent 2)	底物 (Substrate)	0.16 mL×1 支	-20 ℃ 避光 保存 6 个月
试剂三 (Reagent 3)	抑制剂 (Inhibitor)	0.08 mL×1 支	-20 ℃ 避光 保存 6 个月
试剂四 (Reagent 4)	1 mmol/L 标准品溶液 （1 mmol/L Standard Solution）	0.4 mL×1 支	-20 ℃ 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(激发波长：340 nm 发射波长：440 nm)、37 ℃ 恒温箱

试剂准备

① 检测前，试剂盒中的试剂平衡至25℃。

② 试剂二工作液的配制：

按试剂二：试剂一 ＝1：99的体积比配制，按需配制，当天使用有效。

③ 试剂三工作液的配制：

按试剂三：试剂一 ＝1：199的体积比配制，按需配制，配制好的工作液-20℃下保存，2天内使用有效。

④ 2 μmol/L标准品的配制：

按试剂四：试剂一 ＝1：499的体积比配制，避光待用，现配现用，当天使用有效。

⑤ 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(μmol/L)	**0**	**0.25**	**0.5**	**0.75**	**1**	**1.5**	**1.75**	**2**
2 μmol/L 标准品(μL)	0	50	100	150	200	300	350	400
试剂一(μL)	400	350	300	250	200	100	50	0

样本准备

① 样本处理

组织样本：按照组织样本质量(g)：试剂一体积(mL)=1：9的比例匀浆，4ºC，10000 ×g离心10 min，取上清置于冰上待测。

细胞样本：取1×10^6个细胞，加入200 μL试剂一匀浆，4ºC，10000 ×g离心10 min，取上清，2-8 ℃保存待测。

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：0.004-0.105 U/L，请参考下表稀释(仅供参考)：

样本	稀释倍数	样本	稀释倍数
10%小鼠肝组织	不稀释	10%小鼠肺组织	不稀释
10%小鼠肾组织	不稀释	1×10^6 293T 细胞	不稀释
10%小鼠脑组织	不稀释		

注：稀释液为试剂一。

操作步骤

① 标准孔:取 180 μL 不同浓度的标准品溶液分别加入相应的酶标孔中。

总酶活孔：取 20 μL 待测样本加入相应的酶标孔中。

非特异性酶活孔：取 20 μL 待测样本加入相应的酶标孔中。

② 向步骤①的总酶活孔中加入 30 μL 试剂一。

向步骤①的非特异性酶活孔中加入 30 μL 试剂三工作液。

③ 酶标板于 25℃下避光孵育 5 min。

④ 向总酶活孔和非特异性酶活孔中加入 130 μL 的试剂二工作液。

⑤ 振板 5 s，37 ℃ 避光孵育 25 min 后荧光酶标仪在激发波长 340 nm，发射波长 440 nm 下检测各孔荧光值。

操作表

	标准孔	**总酶活孔**	**非特异性酶活孔**
不同浓度的标准品溶液(μL)	180	--	--
待测样本(μL)	--	20	20
试剂一(μL)	--	30	--
试剂三工作液(μL)	--	--	30
25℃下避光孵育 5 min			
试剂二工作液(μL)	--	130	130
振板 5 s，37 ℃ 避光孵育 25 min 后荧光酶标仪在激发波长 340 nm，发射波长 440 nm 下检测各孔荧光值。			

结果计算

标准品拟合曲线：y = ax + b

组织样本中脂肪酸酰胺水解酶(FAAH)活力计算公式：

定义：37℃ 条件下，每千克组织样本每分钟催化底物产生 1 μmol 的产物所需要的酶量为一个活力单位。

$$\text{FAAH 活力 (U/kg wet weight)} = (\Delta F - b) \div a \div T \times f \div m \times v \times 9^*$$

细胞样本中脂肪酸酰胺水解酶(FAAH)活力计算公式：

定义：37℃ 条件下，每 10^6 个细胞样本每分钟催化底物产生 1 μmol 的产物所需要的酶量为一个活力单位。

$$\text{FAAH 活力 (U/10}^6\text{)} = (\Delta F - b) \div a \div T \times f \div n \times v \times 9^*$$

注解：

y：标准品荧光值-空白荧光值(标准品浓度为 0 时的荧光值)

x：标准品的浓度

a：标曲的斜率

b：标曲的截距

ΔF：样本的绝对荧光值（$\Delta F = F_{总} - F_{非}$）

绝对荧光值 = 总酶活荧光值－非特异性酶活荧光值

T：反应时间 25 min

f：样本加入检测体系前的稀释倍数

m：样本质量，kg

v：提取液体积，L

n：细胞个数，10^6

9*：样本在检测体系中的稀释倍数

附录1 关键数据

1. 技术参数

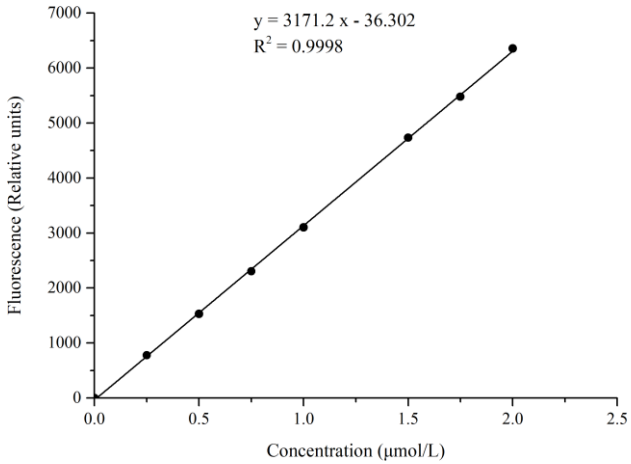
检测范围	0.004-0.105 U/L	**批间差**	0.2-12.2%
灵敏度	0.004 U/L	**批内差**	3.7-6.0%
稀释回收率	100-105%		

2. 标准曲线(数据仅供参考)

① 不同浓度标准品加样量180 μL，按照操作步骤进行实验，荧光值如下表所示：

标准品浓度 (μmol/L)	**0**	**0.25**	**0.5**	**0.75**	**1**	**1.5**	**1.75**	**2**
荧光值	30	798	1519	2350	3162	4768	5433	6352
	30	816	1601	2319	3106	4762	5585	6421
平均荧光值	30	807	1560	2335	3134	4765	5509	6387
绝对荧光值	0	777	1530	2305	3104	4735	5479	6357

② 绘制标曲(如下图)：



附录2 实例分析

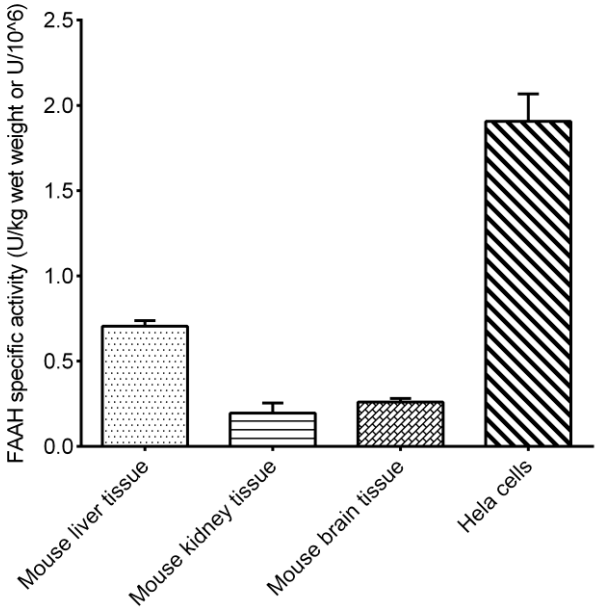
例如小鼠肝组织(数据仅供参考):

取20 μL 10 %小鼠肝组织匀浆加入到酶标板孔中，按操作表操作，结果如下：标准曲线：y = 3171.2 x - 36.302，测定的荧光值$F_{总}$为3099，$F_{非}$为2445，ΔF = $F_{总}$ - $F_{非}$ = 3099 - 2445 = 654，计算结果为：

FAAH活力(U/kg wet weight) =

(654 + 36.302) ÷ 3171.2 ÷ 25 ÷ 0.001 × 0.009 × 9 = 0.705 U/kg wet weight

按说明书操作，测定10%小鼠肝组织(加样量20 μL)、10%小鼠肾组织(加样量20 μL)、10%小鼠脑组织(加样量20 μL)、Hela细胞(1×10^6个，加样量20 μL)中的FAAH活力(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。