

游离脂肪酸(NEFA)检测试剂盒

简介:

游离脂肪酸又称非酯化脂肪酸 (nonesterified fatty acid NEFA) , 血清中含量很少, 如用小量血清标本测定必须采用灵敏的方法, 并要避免脂肪水解产生的脂肪酸的干扰。NEFA 是由油酸, 软脂酸, 亚油酸等组成, 大部分游离脂肪酸与白蛋白结合, 存在于血液中。血清中游离脂肪酸的浓度与脂类代谢、糖代谢、内分泌功能有关, 游离脂肪酸的浓度会因为糖尿病、重症肝障碍、甲状腺功能亢进等疾病而上升。

检测原理:

游离脂肪酸(NEFA)能与铜离子结合形成脂肪酸铜盐而溶于氯仿中, 其含量与游离脂肪酸成正比, 用铜试剂测定其中的含量, 即可推算出游离脂肪酸的含量。

试剂盒组分: (保存温度 4℃)

名 称	规格 (96 T)
微孔板	1/块
标准品 (1000umol/L)	2支
工作液 (缓冲液, 显色剂等)	8 支
产品说明书	1 份

本试剂盒仅供科学研究使用, 不用于临床诊断! 使用前务必仔细阅读说明书!

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:

销售部电话: 18968009509, 18968000935, 18969978509

技术部电话: 0571-86733691

邮箱(技术部): 826710510@qq.com

网址: www.jhnbio.com

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。

标本处理:

1. 血清 (浆): 直接测定, 如超过线性范围用生理盐水稀释后测定。
2. 培养液样本: 吸取培养液, 1000 转/分, 离心 10-15 分钟, 取上清测定。

Webset: www.jhnbio.com

Tel.: 18968009509, 18968000935, 18969978509

3. 组织样本：准确称取组织重量，按重量 (g) :体积 (ml) =1:9 的比例，加入 9 倍体积的匀浆介质，冰水浴条件下匀浆，25000 转/分，离心 10-15 分钟，取上清测定。
4. 细胞样本：
 - a. 细胞收集：将制备好的细胞悬液取出，1000 转/分，离心 10-15 分钟，弃上清液，取细胞沉淀；用等渗缓冲液（推荐 0.1mol/L、PH7-7.4 磷酸盐缓冲液）清洗 1-2 次，同样 1000 转/分，离心 10-15 分钟，弃上清液，取细胞沉淀。
 - b. 细胞破碎：采用裂解液裂解，裂解好的液体不离心直接测定。

试剂的配制

试剂一： 氯仿（三氢甲烷），自备。

试剂二： 缓冲液，40ml × 1 瓶，室温保存 6 个月。

试剂三： 铜试剂，甲液 30ml × 1 瓶，乙液 30ml × 1 瓶，丙液 5ml × 1 瓶，4℃ 保存 6 个月。试剂三铜试剂的配制：甲液：乙液：丙液=10：9：1 的比例进行配制，按需配制，配制好后可 4℃ 保存 2 周。

试剂四： 显色剂，粉剂 × 2 支，稀释液 10ml × 2 瓶，4℃ 保存 3 个月。试剂四的配制：临用时将 1 支粉剂溶解于 1 瓶 10ml 稀释液中，配制好后可 4℃ 保存 2 周。

试剂五： 棕榈酸标准品粉剂 × 2 支，溶剂 50ml × 1 瓶，4℃ 保存 3 个月。1000umol/L 棕榈酸标准品的配制：将一支粉剂用溶剂溶解后定容至 20ml（注意用溶剂将装粉剂的离心管洗净）。

试剂六： 蒸馏水 40ml × 1 瓶。

检测步骤：

	空白管	标准管	测定管
蒸馏水(ml)	0.2	0.2	
1000umol/L 棕榈酸标准品(ml)		0.2	
待测样本(ml)			0.2
试剂二缓冲液(ml)	0.5	0.5	0.5
试剂三铜试剂(ml)	1.0	1.0	1.0
三氢甲烷(ml)	4.0	3.8	4.0
充分混匀，3500 转/分离心 10 分钟，仔细吸去上层蓝色液体及蛋白凝块弃之，吸取下层液体 2ml 进行显色。			
下层提取液(ml)	2.0	2.0	2.0
显色剂(ml)	0.25	0.25	0.25
混匀，室温放置 2 分钟，在 440nm 测定各管吸光度 OD 值			

结果判断与计算：

- 1、血清（浆）和组织上清的计算公式：

Webset: www.jhnbio.com

Tel.: 18968009509,18968000935,18969978509

$$NEFA \text{ 含量} = \frac{A_{\text{样本孔}} - A_{\text{空白孔}}}{A_{\text{标准孔}} - A_{\text{空白孔}}} \times C_{\text{标准}}$$

[注]:甘油三酯含量单位为: umol/L

$C_{\text{标准}}$: 标准液浓度, 1000umol/L。

2、细胞计算公式

用裂解液提取样本计算方法 (此方法需要另外测定匀浆液蛋白浓度) :

$$NEFA \text{ 含量} = \frac{A_{\text{样本孔}} - A_{\text{空白孔}}}{A_{\text{标准孔}} - A_{\text{空白孔}}} \times C_{\text{标准}} \div C_{pr}$$

[注]:甘油三酯含量单位为: umol/gprot

$C_{\text{标准}}$: 标准液浓度, 1000umol/L。

C_{pr} : 待测组织样本匀浆蛋白浓度, gprot/L, prot 指蛋白。

注意事项:

- 1、颜色太深时, 将样品作适当稀释, 结果乘以稀释倍数。
- 2、最好使用一次性塑料试管, 防止污染。
- 3、本产品仅用于科研, 不得用于临床诊断, 切勿服用。
- 4、氯仿有剧毒, 一定要在有防护措施的情况下操作。



金恒诺
JINHENGNUO