

游离脂肪酸(FFA)检测试剂盒（微量法）

货号：PMK1137

保存：4℃避光保存 12 个月

规格：48T/96T

检测范围：0.0313mM-2mM 灵敏度：0.0313mM

适用样本：血清（浆）、动植物组织、细胞、细菌

产品简介

游离脂肪酸（FFA），也称为非酯化脂肪酸，既是脂肪水解的产物，又是脂肪合成的底物，在与白蛋白结合的血浆中循环。血清中 FFA 的浓度与脂类代谢、糖代谢、内分泌功能有关，FFA 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。本试剂盒可检测生物体内游离脂肪酸含量，其原理是 FFA 与铜离子结合形成脂肪酸铜盐，并溶于氯仿；利用铜试剂法测定铜离子含量，即可推算出游离脂肪酸含量。可以检测血清（浆）、动植物组织、细胞、细菌等样本。

产品内容

试剂盒组分	规格		储存条件
	48T	96T	
试剂一	5.4mL	10.75mL	4℃避光保存
试剂二	15mL	30mL	4℃避光保存
标准品（16.41mg 棕榈酸）	1	1	4℃避光保存

自备耗材

酶标仪或可见分光光度计（能测 550nm 处的吸光度）

96 孔板或微量玻璃比色皿、可调节式移液枪及枪头

恒温箱、制冰机、低温离心机

玻璃瓶（用于配制提取液）

匀浆器（如果是组织样本）

正庚烷、无水甲醇、氯仿（三氯甲烷）

试剂准备

提取液（自备）：取一个玻璃瓶，按照氯仿：正庚烷：无水甲醇=30:30:1.2 的比例配制，盖紧后混匀，4℃避光保存。

试剂一：即用型；使用前，平衡到室温；4℃避光保存。

试剂二：即用型；使用前，平衡到室温；4℃避光保存。

标准品：临用前配制，加 1mL 提取液，充分溶解得到 64mM 标准品，未用完的已溶解的标准品可装于玻璃瓶中盖紧密封，4℃避光保存。

标准曲线设置：把 64mM 标准品按下表所示，用提取液进行下一步稀释。

	标准品体积 (μL)	提取液体积 (μL)	标准品浓度 (mM)
Std. 1	20μL of 64mM	620	2
Std. 2	100μL of Std. 1 (2mM)	100	1

产品说明书

Std. 3	100μL of Std. 2 (1mM)	100	0.5
Std. 4	100μL of Std. 3 (0.5mM)	100	0.25
Std. 5	100μL of Std. 4 (0.25mM)	100	0.125
Std. 6	100μL of Std. 5 (0.125mM)	100	0.0625
Std. 7	100μL of Std. 6 (0.0625mM)	100	0.0313

注意：每次实验，请使用新稀释的标准品。

样本制备

动物组织：称取约 0.1g 样本，加入 1mL 提取液，冰浴匀浆，8,000rpm，4℃离心 10min，取清液，置冰上待测。

植物组织：称取约 0.1g 样本，加入 1mL 提取液捣碎，冰浴超声波破碎 5min（功率 20%或 200W，超声 3s，间隔 7s，重复 30 次），8,000rpm，4℃离心 10min，取清液，置冰上待测。

细胞或细菌：收集 500 万细胞或细菌到离心管内，用冷 PBS 清洗细胞，离心后弃上清，加入 1mL 提取液，冰浴超声波破碎 5min（功率 20%或 200W，超声 3s，间隔 7s，重复 30 次），8,000rpm，4℃离心 10min，取清液，置冰上待测。

血清（浆）：取 0.1mL 液体样本，加入 1mL 提取液混匀，8,000rpm，4℃离心 10min，取清液，置冰上待测。

注意：推荐使用新鲜样本，如果不立即进行实验，样本可在-80℃保存 6 个月。

实验步骤

1. 酶标仪或可见分光光度计预热 30min 以上，调节波长到 550nm，可见分光光度计去离子水调零。

2. 样本测定（在 EP 管中依次加入下列试剂）：

	空白管（μL）	标准管（μL）	测定管（μL）
提取液	240	200	200
不同浓度标准品	0	40	0
样本	0	0	40

混匀后盖紧瓶盖，置于涡旋混合器上中速涡旋 30s

试剂一	80	80	80
混匀后盖紧瓶盖，置于涡旋混合器上中速涡旋 30s，室温（25℃）放置 20min；2,000g，室温（25℃）离心 5 min，取清液 50μL 到新的 EP 管中（注意不要吸到蓝绿色悬浊部分）			
清液	50	50	50
试剂二	200	200	200

室温（25℃）放置 5min。每管取出 200 μL 加入 96 孔板或微量玻璃比色皿中，于 550nm 测定吸光值，计算 $\Delta A_{\text{测}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}$ 、 $\Delta A_{\text{标}} = A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}$ （空白管只需做 1 管）。显色后务必在 30min 内测完。

注意：实验之前建议选择 2-3 个预期差异大的样本做预实验，如果 $A_{\text{测定}}$ 大于酶标仪检测范围，样本可用提取液进一步稀释，计算结果乘以稀释倍数。

结果计算

1. 标准曲线的绘制

以标准液浓度为 y 轴， $\Delta A_{\text{标}}$ 为 x 轴绘制标准曲线（浓度为 y 轴更方便计算结果）。将 $\Delta A_{\text{测}}$ 带入标准曲线公式计算出 y（mM 即 $\mu\text{mol/mL}$ ）。

2. 样本 FFA 含量计算

（1）按样本质量计算

FFA 含量（ $\mu\text{mol/g}$ 质量）= $y \times V_{\text{提取}} \div W \times n = y \div W \times n$

（2）按细菌或细胞数量计算

FFA 含量（ $\mu\text{mol}/10^4$ cells）= $y \div (\text{细胞数量} \div V_{\text{提取}}) \times n = y \div 500 \times n = 0.002 \times y \times n$

产品说明书

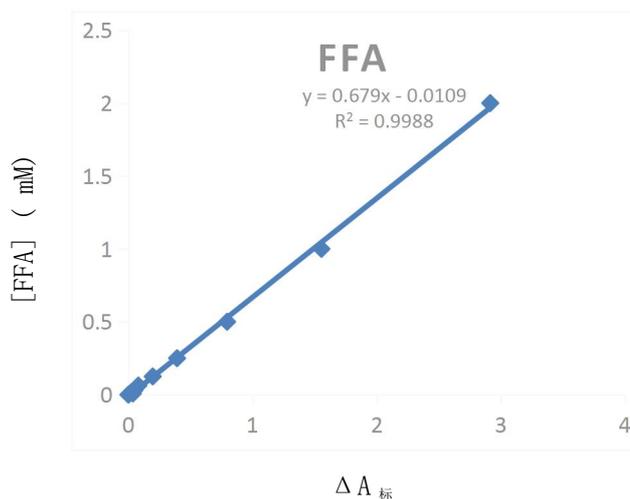
(3) 按液体体积计算

FFA 含量 ($\mu\text{mol/mL}$) = $y \times V_{\text{提取}} \div V_{\text{液}} \times n = 10 \times y \times n$

$V_{\text{提取}}$: 加入提取液体积, 1mL; $V_{\text{液}}$: 液体样本体积, 0.1mL; W : 样本质量, g; n : 样本进一步稀释的稀释倍数; 500: 细菌或细胞总数, 500 万个。

结果展示

典型标准曲线-数据和曲线仅供参考, 实验者需根据自己的实验建立标准曲线



注意事项

1. 实验过程中请穿戴实验服、口罩和乳胶手套。请按照生物实验室的国家安全规定进行实验, 尤其是在检测血样或其他体液时。
2. 本试剂盒仅用于实验室科学研究, 如果本试剂盒用于临床诊断或任何其他用途, 我们将不对任何后果负责。
3. 本试剂盒应在有效期内使用, 并请严格按照说明书进行存储。
4. 不同批次号、不同厂家之间的组分不要混用; 否则, 可能导致结果异常。
5. 勤换吸头, 避免各组分之间的交叉污染。

相关产品:

- PMK1142 甘油三酯 (TG) 检测试剂盒 (微量法)
- PMK1143 总胆固醇 (TC) 检测试剂盒 (微量法)
- PMK1144 游离胆固醇 (FC) 检测试剂盒 (微量法)
- PMK1151 血清高密度脂蛋白 (HDL-C) 检测试剂盒 (微量法)
- PMK1152 血清低密度脂蛋白 (LDL-C) 检测试剂盒 (微量法)

更多产品详情了解, 请关注公众号:

