

脂肪酸氧化（FAO）检测试剂盒（微量法）

货号：PMK1925

保存：-20℃保存 12 个月

规格：48T/96T

适用样本：动植物组织、细胞

产品简介

脂肪酸氧化（FAO）是体内脂肪酸分解的主要途径，FAO 可以供应机体所需要的大量能量。FAO 也是脂肪酸的改造过程，机体所需要的脂肪酸链的长短不同，通过氧化可将长链脂肪酸改造成长度适宜的脂肪酸，供机体代谢所需。本试剂盒可检测生物样本样本的 FAO 能力，其原理是 FAO 过程消耗底物和 NAD⁺，生成 NADH 在电子偶联剂存在下将 WST-8 还原生成橙黄色的 formazan（甲臌），在 450nm 左右有最大吸收峰。通过检测体系 450nm 处光吸收增加速率可反映出样本的 FAO 能力。

产品内容

试剂盒组分	规格		储存条件
	48T	96T	
提取液	50mL	100mL	4℃ 保存
反应缓冲液	10mL	20mL	4℃
试剂一	110μL	220μL	-20℃ 避光保存
试剂二	0.5mL	1mL	-20℃
试剂三	1.5mL	3mL	4℃ 避光保存
NADH 标准品	粉剂×1 支	粉剂×1 支	-20℃ 避光保存

自备耗材

酶标仪或可见分光光度计（能测 450nm 处的吸光度）及恒温培养箱
96 孔板或微量玻璃比色皿、移液枪及枪头
去离子水
匀浆器（如果是组织样本）

试剂准备

注意：各组分（小管试剂）开盖前，请先低速离心。

提取液：即用型；4℃ 保存。

反应缓冲液：即用型；使用前，平衡到室温；4℃ 保存。

试剂一：使用时，用反应缓冲液进行 1:10 稀释，整个实验过程中，冰上避光放置。现用现配，用多少配多少；分装后-20℃ 保存，避免反复冻融。

试剂二：即用型；整个实验过程中，冰上放置；分装保存于-20℃。

试剂三：即用型；使用前，平衡到室温；4℃ 避光保存。

NADH 标准品：临用前配制，加入 1mL 去离子水充分溶解备用，得 10mM 标准品，未用完的试剂-20℃ 分装保存。

NADH 标准曲线设置：取 50μL 10mM 的 NADH 用 950μL 去离子水稀释至 0.5mM。按下表所示，进行下一步稀释：

	标准品体积	去离子水（μL）	浓度（mM）
Std. 1	50μL 10mM 标准品	950	0.5

Std. 2	100μL of Std. 1	100	0.25
Std. 3	100μL of Std. 2	100	0.125
Std. 4	100μL of Std. 3	100	0.0625
Std. 5	100μL of Std. 4	100	0.0313
Std. 6	100μL of Std. 5	100	0.0156
Std. 7	100μL of Std. 6	100	0.0078

注意：每次实验，请使用新配制的标准品。

样本制备

1. 组织：称取约 0.1g 样本，加入 1mL 提取液，冰浴匀浆，10,000g，4℃离心 10min，取上清液置冰上待测。
2. 细胞：收集 500 万细胞到离心管内，用冷 PBS 清洗细胞，离心后弃上清，加入 1mL 提取液，冰浴超声波破碎细胞 5min（功率 20%或 200W，超声 3s，间隔 7s，重复 30 次），然后 10,000g，4℃离心 10min，取上清液，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 1 个月。测定蛋白浓度，推荐使用 BCA 法蛋白质定量试剂盒进行样本蛋白质浓度测定。

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 450nm，可见分光光度计去离子水调零。
2. 操作表（下述操作在 96 孔板或微量玻璃比色皿中操作）：

试剂（μL）	空白孔	标准孔	测定孔
样本	0	0	20
标准品	0	20	0
提取液	20	0	0
反应缓冲液	160	160	132
试剂二	0	0	8
试剂三	20	20	20
试剂一	0	0	20

混匀后立刻测定测定 450nm 处吸光度 A_1 ，37℃避光孵育 20min 后，测定 450nm 处吸光度 A_2 。计算 $\Delta A_{\text{标}} = A_{\text{标}2} - A_{\text{标}1}$ ； $\Delta A_{\text{测}} = A_{\text{测}2} - A_{\text{测}1}$ （空白和标准曲线只需做 1 次）。

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 $\Delta A_{\text{测}}$ 小于 0.001 可适当加大样本量。如果 $\Delta A_{\text{测}}$ 大于 1.0，样本可用提取液进一步稀释，计算结果乘以稀释倍数，或减少提取用样本量。

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 $\Delta A_{\text{测}}$ 带入方程得到 y 值（1mM=1μmol/mL）即 NADH 含量。

2. FAO 能力计算

（1）按样本蛋白浓度计算

单位的定义：每 mg 组织蛋白在反应体系中每分钟生成 1μmol 的 NADH 定义为一个 FAO 能力单位。

FAO 能力 (μmol/min/mg prot) = $y \times V_{\text{反应}} \div (V_{\text{样}} \times C_{\text{pr}}) \div T \times n = 0.5y \div C_{\text{pr}} \times n$

（2）按样本鲜重计算

单位的定义：每 g 组织在反应体系中每分钟生成 1μmol 的 NADH 定义为一个酶活力单位。

FAO 能力 (μmol/min/kg 鲜重) = $y \times V_{\text{反应}} \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times W) \div T \times n = 0.5y \div W \times n$

产品说明书

(3) 按细胞数量计算

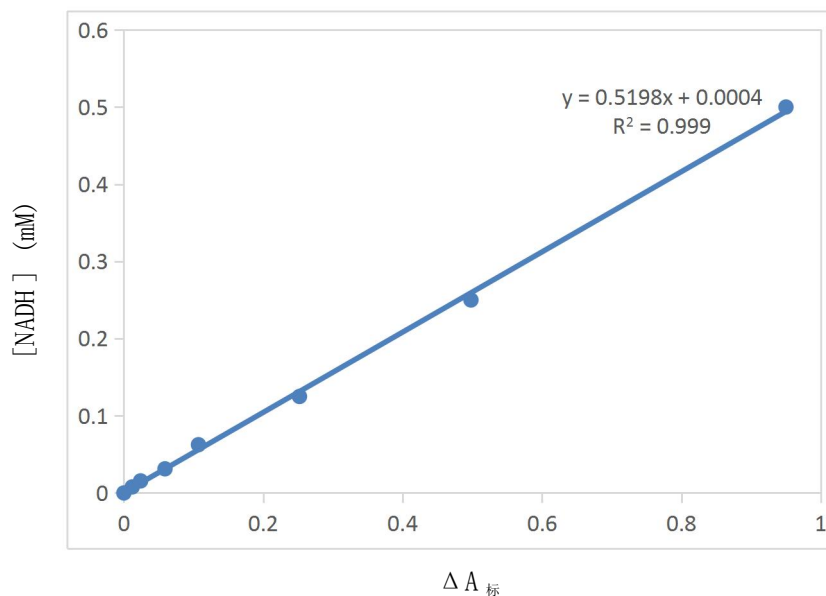
单位的定义：每 1 万个细胞在反应体系中每分钟生成 $1\mu\text{mol}$ 的 NADH 定义为一个酶活力单位。

FAO 能力 ($\mu\text{mol}/\text{min}/10^4 \text{ cell}$) $= y \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times 500) \div T \times n = 0.001y \times n$

$V_{\text{反总}}$ ：反应体系总体积，0.2mL； $V_{\text{样}}$ ：加入样本体积，0.02mL； $V_{\text{样总}}$ ：加入提取液体积，1mL；Cpr：样本蛋白质浓度，mg/mL；T：反应时间，20min；n：样本稀释倍数；W：样品质量，g；500：细胞总数，500 万。

结果展示

典型标准曲线-以下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：

PMK1137 游离脂肪酸 (FFA) 检测试剂盒 (微量法)
PMK1019 脂肪酸合成酶 (FAS) 检测试剂盒 (微量法)
PMK1138 脂肪酶 (LPS) 检测试剂盒 (微量法)
PMK1143 总胆固醇 (TC) 检测试剂盒 (微量法)
PMK1813 脂质过氧化物 (LPO) 检测试剂盒 (微量法)

更多产品详情了解，请关注公众号：

