

# 游离脂肪酸(NEFA)检测试剂盒

(用于血清、血浆、细胞培养上清液和其它生物体内)

## 原理

血中游离脂肪酸可以反映人脂肪代谢的一个侧面，尤其血脂水平的一个侧面。NEFA 增高多见于肥胖，糖尿病，甲状腺机能亢进，心肌梗塞，肢端肥大症，严重肝病和饥饿，NEFA 降低见于甲状腺机能减退，脑垂体功能不全等，餐后可有生理性降低。

本实验采用比色法在酶标板上反应，标准品和样品中的 NEFA 与底物工作液显色，在 550nm 处测 OD 值，NEFA 浓度与 OD 值成正比，可通过绘制标准曲线求出标本中 NEFA 浓度。

## 试剂盒组成 (2-8℃保存)

酶标板 (Coated Wells)	96孔	R2a: 酶稀释液	20ml
R1a:缓冲液	10ml	R2b: Maleimide	1瓶
R1b: 酶/辅酶	1瓶	R2c: 酶试剂	1瓶
封板膜	2张	标准品 (Standards): 1.04mmol/L	0.5ml

## 准备试剂与收集血样

- 收集标本：血清、血浆 (EDTA、柠檬酸盐)、细胞培养上清液、组织匀浆等尽早检测，2-8℃保存 48 小时；更长时间须冷冻 (-20℃或-70℃) 保存，避免反复冻融。
- R1b 溶液：酶/辅酶溶液：用 10ml 的 R1a 缓冲液复溶 R1b。2-8 度可稳定 5 天，避光保存。
- R2c 溶液：先用 20ml 的 R2a 酶稀释液复溶 R2b。彻底溶解后再复溶 R2c。2-8 度可稳定 5 天，避光保存。

## 检测程序

- 加样：加入标准品 (10ul, 5ul, 2.5ul, 1.25ul, 0) 或待测样品 5ul。
- 每孔加入 R1b 溶液 100ul。37℃孵育 10 分钟。
- 每孔加 R2c 溶液 200ul。37℃10 分钟。
- 30 分钟内用酶标仪在 550nm 处测吸光值。

## 结果计算与判断

- 所有 OD 值都应减除空白值后再行计算。
- 以标准品 2.08、1.04、0.52、0.26、0 mmol/L 为横坐标，OD 值为纵坐标，在坐标纸上作图，画出标准曲线。
- 根据样品 OD 值在该曲线图上查出相应 NEFA 含量。

## 试剂盒性能

- 灵敏度：最小的 NEFA 检测浓度小于 0.1mmol/L。
- 特异性：可同时检测重组或天然的 NEFA。不与其它细胞因子有交叉反应。
- 重复性：板内、板间变异系数均小于 10%。

## 注意事项

- 以上标准孔及待测样品均建议做复孔，每次测定应同时做标准曲线。
- 板条开封后剩余板条要再封好，保持**板条干燥**。
- 本试剂盒宜置 4℃冰箱保存。
- 本试剂盒仅用于科研，不能用于临床诊断！
- 样本如果浑浊需要离心或稀释后检测。