



# 游离脂肪酸 (NEFA) 测定试剂盒说明书(精简版)

(A042-2-1 酶法 微板法 96T)

**免责声明:** 测试前请仔细阅读说明书, 预试后再进行批量实验, 否则由此导致的后果用户自行承担!

**【包装规格】**

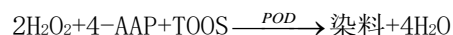
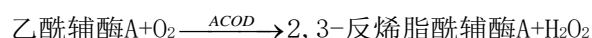
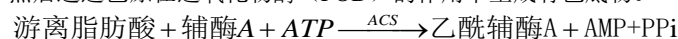
试剂一: 20mL×1 瓶。  
试剂二: 5mL×1 瓶。  
标准品: 0.2mL×1 支。

**【预期用途】**

用于血清、血浆、组织匀浆、细胞(或细胞上清)中游离脂肪酸(NEFA)的定量测定。

**【检验原理】**

游离脂肪酸(Non-esterified fatty acids, NEFA)和辅酶 A 在乙酰辅酶 A 合成酶(ACS)的作用下反应生成乙酰辅酶 A。乙酰辅酶 A 在乙酰辅酶 A 氧化酶(ACOD)的作用下生成 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, 然后通过色原在过氧化物酶(POD)的作用下生成有色底物。



染料的吸光度与样本中游离脂肪酸的浓度成正比。

**【储存条件及有效期】**

试剂 2~8℃避光保存, 可稳定 6 个月。试剂不得冷冻, 不可高温运输。试剂开封后, 2~8℃避光保存可稳定 2 周。

**【适用仪器】**

各种类型的全自动生化分析仪和半自动生化分析仪、酶标仪(546nm 波长)。

**【所需试剂和试剂】**

蒸馏水、生理盐水(或 PBS (0.1M))、电子秤(毫克级)。

**【样本要求】**

血液采集后需及时分离血清或血浆, 避免溶血, 最好立即检测(因游离脂肪酸的浓度会由于脂降解作用升高)。

**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 倍体积的生理盐水, 冰水浴条件下机械匀浆, 制成 10% 的匀浆, 2500 转/分, 离心 10 分钟, 取上清测定。

**细胞样本**需收好破碎后制成匀浆液进行测定, **细胞培养上清**可直接进行实验。

标本 2~8℃稳定 3 天(血清、浆), 如标本不能立即检测, 需将样本置于-20℃或更低温度保存(组织或细胞样本制成匀浆后需当天进行检测)。不可使用肝素抗凝的血浆样本。

**【检验方法】****1、主要性能参数:**

|      |       |      |     |      |     |
|------|-------|------|-----|------|-----|
| 主波长  | 546nm | 反应温度 | 37℃ | 反应方法 | 终点法 |
| 辅助波长 | 600nm | 反应方向 | 向上  |      |     |

**2、操作步骤**

| 孔别                                     | 空白     | 校准     | 样本     |
|--|--------|--------|--------|
| 加入物                                    |        |        |        |
| 双蒸水                                    | 4 μL   |        |        |
| 标准品                                    |        | 4 μL   |        |
| 样品                                     |        |        | 4 μL   |
| 试剂一                                    | 200 μL | 200 μL | 200 μL |
| 混匀, 37℃孵育 5min, 读取吸光度值 A1              |        |        |        |
| 试剂二                                    | 50 μL  | 50 μL  | 50 μL  |
| 混匀, 37℃孵育 5min, 读取吸光度值 A2, 计算 ΔA=A2-A1 |        |        |        |

采用两点校准(或自行制作校准曲线)计算, 各实验室也可根据具体情况制定自己的校准程序和质控程序(质控程序主要用于验证试剂偏差)。

**3、计算公式:**

$$\text{液体样本 NEFA 含量 (mmol/L)} = \frac{\Delta A_{\text{样本}} - \Delta A_{\text{空白}}}{\Delta A_{\text{校准}} - \Delta A_{\text{空白}}} \times C_{\text{校准}}$$

$$\text{固体样本 NEFA 含量 (mmol/gprot)} = \frac{\Delta A_{\text{样本}} - \Delta A_{\text{空白}}}{\Delta A_{\text{校准}} - \Delta A_{\text{空白}}} \times C_{\text{校准}} \div C_{\text{pr}}$$

C<sub>校准</sub>: 标准品浓度, 1.00mmol/L(具体浓度见标签);

C<sub>pr</sub>: 组织(细胞)匀浆蛋白浓度, gprot/L(prot 指蛋白)。

(液体样本有血清(浆)、培养液等, 固体样本有动植物组织、细胞等)

**【参考值范围】**

人血清和血浆 0.1~0.77mmol/L

本参考值仅供参考, 建议各实验室建立自己的参考值范围。

**【产品性能指标】**

试剂空白吸光度: A<sub>546nm</sub>(1.0cm)≤0.1500;

线性范围: 0.01~2.0mmol/L(判定依据: r<sup>2</sup>≥0.995);

准确度: 相对偏差≤15.0%; 绝对偏差≤0.1mmol/L;

精密性: 批内 CV≤10.0%; 批间相对极差≤10.0%;

灵敏度: 样本浓度为 1.0mmol/L 时, 吸光度值差为 0.0800~0.2000

**【注意事项】**

- 1、酶标仪操作时可只用主波长, 孔板里不要加入气泡。
- 2、样本浓度超过线性范围时, 请用生理盐水将标本稀释, 测定结果乘以稀释倍数。
- 3、如仪器内无本试剂盒所要求的波长, 选择接近的波长(原则上偏差不得超过 10nm)。
- 4、不同批次的试剂不推荐混合使用。
- 5、试剂盒中部分原料来源于动物和微生物, 使用时请做好防护措施并严格执行实验操作规程, 废液按环保要求处理。
- 6、样本没有尽快检测的, 脂降解作用会导致结果偏高。
- 7、血液游离脂肪酸具有个体差异, 进食后会升高。
- 8、血液标本溶血影响结果。
- 9、本试剂盒仅用于实验室、科研。