

脂肪酶 (LPS) 活性检测试剂盒 (分光光度计法)
(本试剂盒仅供科研使用)

产品包装

产品编号	产品名称	产品规格
YFX0409	脂肪酶 (LPS) 活性检测试剂盒	50 管/48 样

产品内容

名称	规格	储存条件
试剂一	液体 90mL × 1 瓶	4℃
试剂二	液体 14mL × 1 瓶: 每次使用前用震荡混匀器剧烈震荡 20min.	4℃
试剂三	液体 100mL × 1 瓶 (自备: 甲苯)	4℃
试剂四	液体 20mL × 1 瓶	4℃
标准品	液体 10μL × 1 瓶: 10 μmol/mL 的标准溶液, 临用前加入 3.168 mL 甲苯, 充分溶解。	4℃

一、产品说明

脂肪酶 (Lipase, LPS) 又称甘油酯水解酶, 催化甘油三酯水解生成脂肪酸和甘油 (或者甘油二酯和单酯)。LPS 广泛的存在于各种生物中。血清中 LPS 的异常增高常见于胰腺炎和胰腺癌。

LPS 催化油脂水解成脂肪酸, 利用铜皂法测定脂肪酸生成速率, 即可计算 LPS 活性。

二、自备材料

研钵、台式离心机、震荡混匀器、可见分光光度计、1mL 玻璃比色皿、可调式移液枪、甲苯 100mL、冰和蒸馏水。

三、样品制备

1、组织: 按照组织质量 (g) : 试剂一体积 (mL) 为 1: 5~10 的比例 (建议称取约 0.1g 组织, 加入 1mL 试剂一) 进行冰浴匀浆。12000g, 4℃ 离心 10min, 取上清置冰上待测。

2、细菌、细胞: 按照细胞数量 (10^4 个) : 试剂一体积 (mL) 为 500~1000: 1 的比例 (建议 500 万细胞加入 1mL 试剂一), 冰浴超声波破碎细胞 (功率 300w, 超声 3 秒, 间隔 7 秒, 总时间 3min); 然后 12000g, 4℃, 离心 10min, 取上清置于冰上待测。

3、血清/血浆等液体: 直接检测。

四、操作步骤

正式测定前, 必需取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定。

1、分光光度计预热 30min 以上, 调节波长至 710nm, 蒸馏水调零。

2、试剂一和试剂二置于 37℃ 水浴预热 30min 以上。

3、在 5mL 离心管中依次操作:

试剂名称 (μL)	空白管	测定管
蒸馏水	375	
样本		125

试剂一	750	750
试剂二		250
37°C 振荡反应 10 min。		
试剂三	2000	2000
37°C 振荡反应 10 min 后, 8000g, 25°C, 离心 10min, 取上清液。		

试剂名称 (μL)	空白管	测定管	标准管
上清液	1200	1200	
标准品			1200
试剂四	300	300	300
37°C 振荡反应 5 min 后, 静置 5min, 取 800μL 上层液加入 1 mL 玻璃比色皿, 于 710nm 处测定吸光值。空白管和标准管只需测定一次。			

五、LPS 活性的计算

1、按照样本蛋白浓度计算:

活性单位定义: 37°C 中每毫克蛋白每分钟水解橄榄油生成 1μmol 脂肪酸为一个酶活单位。

$$\text{LPS } (\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg prot}) = [\text{C 标准品} \times (\text{A 测定管} - \text{A 空白管}) \div (\text{A 标准管} - \text{A 空白管})] \times \text{V 总} \div (\text{Cpr} \times \text{V 样}) \div \text{T} = 16 \times [(\text{A 测定管} - \text{A 空白管}) \div (\text{A 标准管} - \text{A 空白管})] \div \text{Cpr}$$

2、按照样本鲜重计算:

活性单位定义: 37°C 中每克组织每分钟水解橄榄油生成 1μmol 脂肪酸为一个酶活单位。

$$\text{LPS } (\mu\text{mol}/\text{min}/\text{g 鲜重}) = [\text{C 标准品} \times (\text{A 测定管} - \text{A 空白管}) \div (\text{A 标准管} - \text{A 空白管})] \times \text{V 反总} \div (\text{W} \times \text{V 样} \div \text{V 样总}) \div \text{T} = 16 \times [(\text{A 测定管} - \text{A 空白管}) \div (\text{A 标准管} - \text{A 空白管})] \div \text{W}$$

3、按照细胞/细菌数量计算:

活性单位定义: 37°C 中每 10⁴ 个细胞每分钟水解橄榄油生成 1μmol 脂肪酸为一个酶活单位。

$$\text{LPS } (\mu\text{mol}/\text{min}/10^4\text{ceLL}) = [\text{C 标准品} \times (\text{A 测定管} - \text{A 空白管}) \div (\text{A 标准管} - \text{A 空白管})] \times \text{V 总} \div (\text{细胞数量} \times \text{V 样} \div \text{V 样总}) \div \text{T} = 16 \times [(\text{A 测定管} - \text{A 空白管}) \div (\text{A 标准管} - \text{A 空白管})] \div \text{细胞数量}$$

4、按照液体体积计算:

活性单位定义: 37°C 中每毫升血清每分钟水解橄榄油生成 1μmol 脂肪酸为一个酶活单位。

$$\text{LPS } (\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mL}) = [\text{C 标准品} \times (\text{A 测定管} - \text{A 空白管}) \div (\text{A 标准管} - \text{A 空白管})] \times \text{V 反总} \div \text{V 样} \div \text{T} = 16 \times [(\text{A 测定管} - \text{A 空白管}) \div (\text{A 标准管} - \text{A 空白管})]$$

C 标准品: 10 μmol/mL; V 反总: 反应总体积, 2mL; V 样: 反应中加入样本体积, 0.125mL;
V 样总: 加入提取液体积, 1mL; Cpr: 上清液蛋白质浓度, mg/mL, 需要另外测定, 建议使用本公司 BCA 蛋白质含量测定试剂盒; W: 样本质量, g; T: 催化反应时间, 10 min。

六、注意事项

- 1、试剂二每次使用前用震荡混匀器剧烈震荡 20min。
- 2、空白管和标准管只需测定一次。