

脂肪酶（LPS）活性检测试剂盒说明书

微量法

注意：本产品试剂有所变动，请注意并严格按照该说明书操作。

货号：BC2345

规格：100T/96S

产品组成：使用前请认真核对试剂体积与瓶内体积是否一致，有疑问请及时联系索莱宝工作人员。

| 试剂名称 | 规格 | 保存条件 |
|------|----------------|--------|
| 试剂一 | 液体 120 mL×1 瓶 | 2-8℃保存 |
| 试剂二 | 液体 6 mL×1 瓶 | 常温保存 |
| 试剂三 | 液体 10 mL×1 瓶 | 2-8℃保存 |
| 标准品 | 液体 59.3 μL×1 支 | 2-8℃保存 |

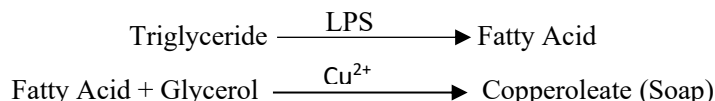
溶液的配制：

标准品：临用前加入 1.435 mL 无水乙醇配成 125 μmol/mL 的油酸标准溶液，充分溶解。用前注意解冻溶解。

产品说明：

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



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。如果样本吸光值不在测量范围内建议稀释或者增加样本量进行检测。

需自备的仪器和用品：

可见分光光度计/酶标仪、台式离心机、微量玻璃比色皿/酶标板（非聚苯乙烯材质）、研钵/匀浆器、可调式移液枪、甲苯、无水乙醇、冰和蒸馏水。

操作步骤：

一、样本处理（可适当调整待测样本量，具体比例可以参考文献）

1. 组织样本：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。4℃，15000rpm 离心 30min，取上清液待测。

2. 血清样本：直接检测。（若液体有浑浊则离心后进行测定）

二、测定步骤

1、可见分光光度计/酶标仪预热 30min 以上，调节波长至 710nm，甲苯调零。

2、试剂一和试剂二置于 37℃ 水浴预热 30min 以上。

3、标准溶液的稀释：将 125 μmol/mL 的油酸标准溶液用无水乙醇稀释为 125、62.5、31.25、15.625、7.8125、3.9 μmol/mL 的标准溶液待测。

4、标准液稀释表

| 序号 | 稀释前浓度 ($\mu\text{mol/mL}$) | 标准液体积 (μL) | 无水乙醇体积 (μL) | 稀释后浓度 ($\mu\text{mol/mL}$) |
|----|---------------------------------|-------------------------|-----------------------------|------------------------------|
| 1 | 125 | 200 | 0 | 125 |
| 2 | 125 | 200 | 200 | 62.5 |
| 3 | 62.5 | 200 | 200 | 31.25 |
| 4 | 31.25 | 200 | 200 | 15.625 |
| 5 | 15.625 | 200 | 200 | 7.8125 |
| 6 | 7.8125 | 200 | 200 | 3.9 |

实验中每个标准管需 80 μL 标准溶液。

5、操作表:

| 试剂 (mL) | 空白管 | 测定管 | 标准管 |
|--|-------|-------|-------|
| 试剂一 | 0.15 | 0.15 | 0.15 |
| 试剂二 | 0.05 | 0.05 | 0.05 |
| 反复震荡混匀 | | | |
| 蒸馏水 | 0.08 | - | - |
| 上清液/血清 | - | 0.08 | - |
| 标准溶液 | - | - | 0.08 |
| 迅速震荡混匀后置于37°C水浴准确反应10 min | | | |
| 甲苯 | 0.4 | 0.4 | 0.4 |
| 反复震荡5min后, 室温4000rpm离心10 min | | | |
| 取出离心管, 小心吸取上层溶液0.3 mL, 加入另一2 mL塑料离心管中, 按下表操作 | | | |
| 试剂三 | 0.075 | 0.075 | 0.075 |

反复震荡 3min; 室温 4000rpm 离心 10 min, 小心吸取上层溶液 0.2mL, 加入微量玻璃比色皿/酶标板中, 于 710nm 处测定吸光值。记为 A 空白管、A 测定管、A 标准管, 计算 ΔA 测定=A 测定管-A 空白管, ΔA 标准=A 标准管-A 空白管。标准曲线和空白管只需做 1-2 次。

三、LPS活性计算

1、根据标准管的浓度 (x , $\mu\text{mol/mL}$) 和吸光度 ΔA 标准 (y , ΔA 标准), 建立标准曲线。根据标准曲线, 将 ΔA 测定 (y , ΔA 测定) 带入公式计算样本浓度 (x , $\mu\text{mol/mL}$)。

2、酶活计算:

(1) 按蛋白浓度计算

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

$$\text{LPS (U/mg prot)} = x \times V_{\text{样}} \div (C_{\text{pr}} \times V_{\text{样}}) \div T = 0.1 \times x \div C_{\text{pr}}$$

(2) 按样本质量计算

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

$$\text{LPS (U/g 质量)} = x \times V_{\text{样}} \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{提}}) \div T = 0.1 \times x \div W$$

(3) 按血清计算

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

$LPS (U/mL \text{ 血清}) = x \div T = 0.1 \times x$

V样：加入反应体系中上清液体积，0.08mL；Cpr：上清液蛋白质浓度，mg/mL，需要另外测定；T：催化反应时间，10min；W：样本质量，g；V提：提取液体积，1mL。

注意事项：

- 1、甲苯有毒，实验过程中需佩戴手套和口罩。
- 2、实验过程中须远离火源。
- 3、当 ΔA 测定大于1时，建议将样本稀释后测量。计算时注意同步修改计算公式。
- 4、如果用酶标板进行试验，建议选用非聚苯乙烯材质的96孔板。

实验实例：

1、取 0.1g 胰腺组织加入 1mL 试剂一匀浆研磨，取上清，之后按照测定步骤操作，用 96 孔板测得计算 ΔA 测定 = A 测定管 - A 空白管 = 0.9734 - 0.1213 = 0.8521，标准曲线 $y = 0.0036x + 0.0123$ ，则 $x = (0.8521 - 0.0123) \div 0.0036 = 233.278$ ，按样本质量计算酶活得：

$LPS (U/g \text{ 质量}) = 0.1 \times x \div W = 0.1 \times 233.278 \div 0.1 = 233.278 U/g \text{ 质量}$ 。

相关发表文献：

[1] Jing Ge, Tao Han, Xiaoqi Li, et al. S-adenosyl methionine regulates calcium channels and inhibits uterine smooth muscle contraction in rats with infectious premature delivery through the transient receptor protein 3/protein kinase C β /C-kinase-activated protein phosphatase-1 inhibitor of 17 kDa signaling pathway. *Experimental and Therapeutic Medicine*. July 2018;(IF1.410)

[2] Zhen X, Gao F, Li X, et al. Responses of hypocotyl growth and seedling emergence with respect to soil sowing depth stress in peanut (*Arachis hypogaea* L)[J]. *Archives of Agronomy and Soil Science*, 2020: 1-17.

相关系列产品：

- BC0590/BC0595 游离脂肪酸（FFA）含量检测试剂盒
- BC1080/BC1085 乙醇脱氢酶（ADH）活性检测试剂盒
- BC0320/BC0325 植物中脂氧合酶（LOX）活性检测试剂盒