

脂肪酶（LPS）活性检测试剂盒说明书

可见分光光度法

货号: BC2340

规格: 50T/48S

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, 有疑问请及时联系本公司工作人员。

试剂名称	规格	保存条件
试剂一	液体 80 mL×1 瓶	4°C保存
试剂二	液体 10 mL×1 瓶	常温保存
试剂三	液体 20 mL×1 瓶	4°C保存
标准品	液体 59.3 μL×1 支	4°C保存

溶液的配制:

标准品: 临用前加入 1.5 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:

研钵/匀浆器、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、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)

组织样本: 称取约 0.1g 样本, 加试剂一 1.0 mL 充分研磨, 于 4°C, 15000rpm 离心 30min, 取上清液待测。

血清样本: 直接检测。

二、测定步骤

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

2、试剂一和试剂二置于 37°C 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、操作表:

加入试剂 (mL)	空白管	测定管	标准管
试剂一	0.375	0.375	0.375
试剂二	0.125	0.125	0.125
反复震荡混匀			
蒸馏水	0.2		
上清液/血清		0.2	
标准溶液			0.2
迅速震荡混匀后置于 37°C 水浴准确反应 10 min			
甲苯	1	1	1
反复震荡混匀后，室温 4000rpm 离心 10 min			
取出离心管，小心吸取上层溶液 0.9 mL，加入另一 2 mL 塑料离心管中，按下表操作：			
试剂三	0.225	0.225	0.225

反复震荡混匀；室温 4000rpm 离心 10min，小心吸取上层溶液 800 μ L，加入 1mL 玻璃比色皿，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。

三、LPS 活性计算

1、标准曲线的绘制：以油酸标准溶液浓度为横坐标， ΔA 标准为纵坐标，绘制标准曲线，得到标准方程 $y=kx+b$ 。

将 ΔA 测定带入方程，得到 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。

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

(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。

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

(3) 按血清计算：

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

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

V 样：加入反应体系中上清液体积，0.2mL；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、当吸光度大于 1 时，建议将样本稀释后测量。

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，使用 96 孔板测得计算 ΔA 测定 =A 测定管-A 空白管=0.811-0.112=0.699，标准曲线 $y=0.0074x$ ，则 $x=0.699\div 0.0074=94.459$ ，按样本质量计算酶活得：

$$\text{LPS (U/g 质量)} = 0.1 \times x \div W = 0.1 \times 94.459 \div 0.1 = 94.459 \text{ U/g 质量。}$$

2、取 0.1g 红叶石楠加入 1mL 试剂一匀浆研磨，取上清，之后按照测定步骤操作，使用 96 孔板测得计算 ΔA 测定 =A 测定管-A 空白管=0.131-0.112=0.019，标准曲线 $y=0.0074x$ ，则 $x=0.019\div 0.0074=2.568$ ，按样本质量计算酶活得：

$$\text{LPS (U/g 质量)} = 0.1 \times x \div W = 0.1 \times 2.568 \div 0.1 = 2.568 \text{ U/g 质量。}$$

相关发表文献：

[1] Jing Ge, Tao Han, Xiaoqiu 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

