

脂肪酶（LPS）活性检测试剂盒（可见分光光度法）

正式测定前务必取2-3个预期差异较大的样本做预测定。

产品货号：BA1475

产品规格：50管/48样

产品内容：

试剂一：液体80mL×1瓶，4℃保存。

试剂二：液体 10mL×1瓶，室温保存。

试剂三：液体 20mL×1瓶，4℃保存。

标准品：0.06mL×1支。临用前加入1.5 mL无水乙醇，充分溶解配制成125 $\mu\text{mol}/\text{mL}$ 的油酸标准溶液，4℃保存。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。

需自备的仪器和用品：

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、无水乙醇、冰和蒸馏水。

操作步骤：

一、粗酶液提取：

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

血清样品：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℃水浴预热30min以上。

3、标准溶液的稀释：将125 $\mu\text{mol}/\text{mL}$ 的油酸标准溶液稀释为125、62.5、31.25、15.625、7.8125、3.9 $\mu\text{mol}/\text{mL}$ 的标准溶液待测。

4、操作表：

试剂名称（ μL ）	空白管	测定管	标准管
粗酶液	0.375	0.375	0.375
试剂一	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℃水浴准确反应10 min			
取出离心管，小心吸取上层溶液0.9mL，加入另一2mL塑料离心管中，按下表操作：			



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q：807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com

加入试剂三 (mL)	空白管	测定管	标准管
试剂三	0.225	0.225	0.225

反复震荡混匀；室温4000rpm离心10 min，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 $\Delta A_{测定} = A_{测定管} - A_{空白管}$ ， $\Delta A_{标准} = A_{标准管} - A_{空白管}$ 。

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， $\Delta A_{标准}$ 为纵坐标，绘制标准曲线，得到标准方程 $y=kx+b$ 。将 $\Delta A_{测定}$ 带入方程，得到x (μ mol/mL)

2、酶活计算：

(1) 按蛋白浓度计算：

活性单位定义：37 $^{\circ}$ C中每毫克蛋白每分钟水解橄榄油生成 1 μ mol 脂肪酸为一个酶活单位。

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

(2) 按样本鲜重计算：

活性单位定义：37 $^{\circ}$ C中每克组织每分钟水解橄榄油生成 1 μ mol 脂肪酸为一个酶活单位。

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

(3) 按血清计算：

活性单位定义：37 $^{\circ}$ C中每毫升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，0.2 mL；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；T：催化反应时间，10 min。W：样本鲜重，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。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q：807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com