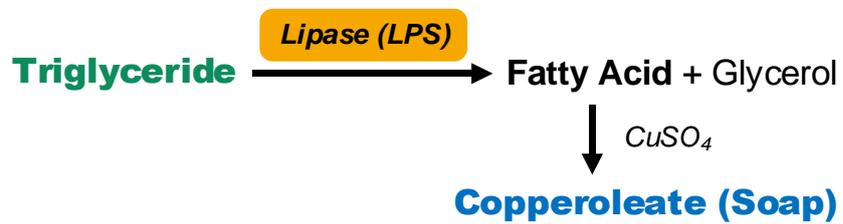




## 脂肪酶 (LPS) 活性检测试剂盒

## Lipase (LPS) Activity Assay Kit



北京盒子生工科技有限公司  
Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.



## 脂肪酶 (LPS) 活性检测试剂盒

### Lipase (LPS) Activity Assay Kit

#### 一、产品描述

脂肪酶 (LPS) 又称甘油酯水解酶, 属于催化长链酯键水解和形成的酶类, 对油水界面具有亲和力, 可催化甘油三酯水解生成脂肪酸和甘油 (或甘油二酯和单酯)。脂肪酶普遍存在于动植物组织及微生物中, 其活性测定对于脂肪代谢分析具有重要意义。

脂肪酶催化油酯水解成游离脂肪酸, 利用铜皂法测定脂肪酸生成速率: 脂肪酸与显色剂中铜离子反应生成铜皂蓝色络合物, 产物在 710 nm 处具有特征吸收峰, 通过吸光值变化即可表征脂肪酶活性。

#### 二、产品内容

名称	试剂规格	储存条件	使用方法及注意事项
试剂一	液体 80 mL×1 瓶	4°C保存	-
试剂二	液体 10 mL×1 瓶	RT 避光保存	-
试剂三	液体 20 mL×1 瓶	4°C保存	-
标准液	液体×1 支	4°C避光保存	使用前加入 1 mL 无水乙醇充分溶解 (即为 120 μmol/mL 油酸标准液)
标准稀释液的制备: 使用前将 120 μmol/mL 油酸标准液使用无水乙醇稀释至 60、30、15、7.5、3.75、1.875 μmol/mL 即为标准稀释液。			

需自备试剂: 无水乙醇 (C<sub>2</sub>H<sub>6</sub>O, MW = 46.07, CAS: 64-17-5); 甲苯 (C<sub>7</sub>H<sub>8</sub>, MW = 92.14, CAS: 108-88-3)

序号	1	2	3	4	5	6
稀释前浓度 (μmol/mL)	120	60	30	15	7.5	3.75
标准液体积 (μL)	300	300	300	300	300	300
无水乙醇体积 (μL)	300	300	300	300	300	300
稀释后浓度 (μmol/mL)	60	30	15	7.5	3.75	1.875

#### 三、产品使用说明

测定过程中所需要的仪器和试剂: 可见分光光度计、1 mL 玻璃比色皿 (光径 10 mm)、研钵/匀浆器、可调式移液器、台式离心机、恒温水浴/培养箱、无水乙醇、甲苯和蒸馏水。

## 1.粗酶液的制备（可根据预实验结果适当调整样本量及比例）

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 0.1 g 组织，加入 1 mL 试剂一）处理样品，冰浴匀浆，4℃ 12000 g 离心 10 min，取上清置于冰上待测。

②细菌或细胞：离心收集细菌或细胞至离心管内，按照细菌或细胞数量（ $10^4$  个）：试剂一体积（mL）为（500-1000）：1 的比例（建议 500 万细菌或细胞加入 1 mL 试剂一）处理样品，冰浴超声破碎（功率 300 W，超声 3 s，间隔 7 s，总时间 3 min），4℃ 12000 g 离心 10 min，取上清置于冰上待测。

③血清、培养液等液体样本：直接检测或使用试剂一适当稀释后再进行检测。

## 2.测定步骤

①分光光度计预热 30 min 以上，调节波长至 710 nm，甲苯调零。

②试验前将试剂一和试剂二 37℃ 预热 30 min。

③在 2 mL 离心管中依次加入下列试剂：

试剂	测定管 ( $\mu\text{L}$ )	标准管 ( $\mu\text{L}$ )	空白管 ( $\mu\text{L}$ )
试剂一	375	375	375
试剂二	125	125	125
反复振荡混匀			
粗酶液	200	-	-
标准稀释液	-	200	-
蒸馏水	-	-	200
迅速振荡混匀，37℃ 准确反应 10 min			
甲苯	1000	1000	1000
反复振荡混匀，8000 g 常温离心 10 min，取上清			
上清液	900	900	900
试剂三	225	225	225
反复振荡混匀，8000 g 常温离心 10 min			

**吸光值测定：**吸取 800  $\mu\text{L}$  上层溶液至 1 mL 玻璃比色皿中，测定 710 nm 处吸光值，记为 A 测定、A 标准和 A 空白；计算  $\Delta A$  测定 = A 测定 - A 空白， $\Delta A$  标准 = A 标准 - A 空白。注：空白管只需测定 1-2 次。

**标准曲线的建立：**以 60、30、15、7.5、3.75、1.875  $\mu\text{mol/mL}$  为横坐标 (x)，对应的  $\Delta A$  标准为纵坐标 (y)，绘制标准曲线，得到标准方程  $y=kx+b$ ，将  $\Delta A$  测定带入公式中得到 x ( $\mu\text{mol/mL}$ )。

### 3.脂肪酶（LPS）活性计算

#### ①按组织蛋白浓度计算

单位定义：37°C条件下，每 mg 组织蛋白每分钟生成 1 μmol 脂肪酸定义为一个酶活单位。

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

#### ②按组织样本质量计算

单位定义：37°C条件下，每 g 组织每分钟生成 1 μmol 脂肪酸定义为一个酶活单位。

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

#### ③按照细菌或细胞数量计算

单位定义：37°C条件下，每 10<sup>4</sup> 个细菌或细胞每分钟生成 1 μmol 脂肪酸定义为一个酶活单位。

$$\text{LPS (U/10}^4 \text{ cell)} = \frac{x \times V_{\text{样}} \times V_{\text{提}}}{\text{细菌或细胞数量} \times V_{\text{样}} \times T} = \frac{0.1 \times x}{\text{细菌或细胞数量}}$$

#### ④按液体样本体积计算

单位定义：37°C中每 mL 液体样本每分钟生成 1 μmol 脂肪酸定义为一个酶活单位。

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

**注释：** V 样：反应体系中加入粗酶液的体积，0.2 mL；V 提：粗酶液总体积，1 mL；Cpr：粗酶液蛋白浓度，mg/mL；W：样本质量，g；细胞或细菌数量：以万计；T：反应时间，10 min。

### 四、注意事项

- ①实验过程中须远离火源，甲苯具有毒性，建议在通风橱中操作并做好防护措施；
- ②若测定吸光值超出标准吸光值线性范围：高于最高值建议将粗酶液使用试剂一适当稀释后再进行测定，低于最低值建议适当增加样本量后再进行测定，计算时相应修改；
- ③为保证结果准确且避免试剂损失，测定前请仔细阅读说明书（以实际收到说明书内容为准），确认试剂储存和准备是否充分，操作步骤是否清楚，且务必取 2-3 个预期差异较大的样本进行预测定，过程中问题请您及时与工作人员联系。

**For Research Use Only. Not for Use in Diagnostic Procedures.**

