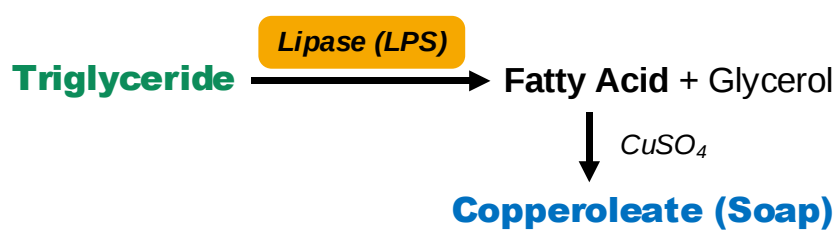




脂肪酶（LPS）活性检测试剂盒

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 120 mL×1 瓶	4°C保存	-
试剂二	液体 8 mL×1 瓶	RT 避光保存	-
试剂三	液体 10 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 120、60、30、15、7.5、3.75 μmol/mL 即为标准稀释液。			

需自备试剂：无水乙醇（C₂H₆O，MW = 46.07，CAS: 64-17-5）；甲苯（C₇H₈，MW = 92.14，CAS: 108-88-3）

序号	1	2	3	4	5	6
稀释前浓度（μmol/mL）	120	120	60	30	15	7.5
标准液体积（μL）	-	200	200	200	200	200
无水乙醇体积（μL）	-	200	200	200	200	200
稀释后浓度（μmol/mL）	120	60	30	15	7.5	3.75

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/酶标仪、微量玻璃比色皿/96 孔板（非聚苯乙烯材质）、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分光光度计或酶标仪预热 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在离心管中依次加入下列试剂：

试剂	测定管 (μ L)	标准管 (μ L)	空白管 (μ L)
试剂一	150	150	150
试剂二	50	50	50
反复振荡混匀			
粗酶液	80	-	-
标准稀释液	-	80	-
蒸馏水	-	-	80
迅速振荡混匀，37℃ 准确反应 10 min			
甲苯	400	400	400
反复振荡混匀，8000 g 常温离心 10 min，取上清			
上清液	300	300	300
试剂三	75	75	75
反复振荡混匀，8000 g 常温离心 10 min			

吸光值测定：吸取 200 μ L 上层溶液至 96 孔板或微量玻璃比色皿中，测定 710 nm 处吸光值，记为 A 测定、A 标准和 A 空白；计算 ΔA 测定 = A 测定 - A 空白， ΔA 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 120、60、30、15、7.5、3.75 μ mol/mL 为横坐标（x），对应的 ΔA 标准为纵坐标（y），绘制标准曲线，得到标准方程 $y=kx+b$ ，将 ΔA 测定带入公式中得到 x（ μ 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℃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℃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℃条件下，每 10⁴ 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℃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，0.08 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.

