

上海茁彩生物科技有限公司
ZCIBIO Technology Co., Ltd



生化检测原理示意图

Cat. NO: ZC-S0406

Size: 100T/96S

脂肪酶 (LPS) 检测试剂盒说明书

微量法

*正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定

一、测定意义:

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。

二、测定原理:

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。

三、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/酶标仪、微量玻璃比色皿/酶标板(非聚苯乙烯材质)可调式移液枪、甲苯、无水乙醇、冰和蒸馏水。

四、试剂的组成和配置:

种类	试剂规格	储存条件	使用方法及注意事项
试剂一	液体 120mL×1 瓶	4℃保存	
试剂二	液体 6mL×1 瓶	室温保存	
试剂三	液体 10mL×1 瓶	4℃保存	
标准品	59.3 μL×1 支	4℃保存	临用前加入 1.5mL 无水乙醇配成 125μmol/mL 的油酸标准溶液,充分溶解。 用前注意解冻溶解

五、操作步骤：

● 粗酶液提取：

1. 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。
2. 血清样品：直接检测。

● 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 μ mol/mL 的油酸标准溶液用乙醇稀释为 125 62.5 31.25 15.625 7.8125、3.9 μ mol/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	0.15	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℃水浴准确反应 10 min			
甲苯	0.4	0.4	0.4
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 0.3 mL，加入另一 2 mL 塑料离心管中，按下表操作：

加入试剂 (mL)	空白管	测定管	标准管
试剂三	0.075	0.075	0.075

反复震荡混匀；室温 4000rpm 离心10min，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。

六、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。

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

(2) 按样本鲜重计算：

活性单位定义：37°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。

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

(3) 按血清计算：

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

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

$V_{\text{样}}$ ：加入反应体系中上清液体积，0.08mL； C_{pr} ：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，10min。 W ：样本鲜重，g； $V_{\text{提}}$ ：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。
- 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。