

上海茁彩生物科技有限公司
Shanghai zcibio technology Co., Ltd.



生化检测原理示意图

脂肪酶 (LPS) 检测试剂盒说明书

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

产品内容：

种类	试剂规格	储存条件	使用方法及注意事项
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	4℃保存	临用前加入 1.5 mL 无水乙醇，充分溶解配制成 125 μmol/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。

试验中所需的仪器和试剂：

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°C 水浴预热 30min 以上。
- 3、标准溶液的稀释: 将 125 $\mu\text{mol/mL}$ 的油酸标准溶液稀释为 125、62.5、31.25、15.625、7.8125、3.9 $\mu\text{mol/mL}$ 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:			
加入试剂 (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 μL , 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（货号：ZC-S0470）；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