

脂肪酶（LPS）活性检测试剂盒说明书

微量法

货号：AC10429

规格：100T/96S

产品组成：使用前请认真核对试剂体积与瓶内体积是否一致，有疑问请及时联系本公司工作人员。

试剂名称	规格	保存条件
试剂一	液体 120 mL×1 瓶	4°C保存
试剂二	液体 6 mL×1 瓶	常温保存
试剂三	液体 10 mL×1 瓶	4°C保存
标准品	液体 59.3 μL×1 支	4°C保存

溶液的配制：

标准品：临用前加入 1.435 mL 无水乙醇配成 125 μmol/mL 的油酸标准溶液，充分溶解。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。

注意：实验之前建议选择 2-3 个预期差异大的样本做预实验。如果样本吸光值不在测量范围内建议稀释或者增加样本量进行检测。

需自备的仪器和用品：

研钵/匀浆器、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。

操作步骤：**一、样本处理（可适当调整待测样本量，具体比例可以参考文献）**

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

血清样本：直接检测。

二、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°C 水浴预热 30min 以上。

3、标准溶液的稀释：将 125 μmol/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 μmol/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°C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			
试剂三	0.075	0.075	0.075

反复震荡混匀, 室温 4000rpm 离心 10 min, 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。

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) 按样本质量计算

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。

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

(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样: 加入反应体系中上清液体积, 0.08mL; Cpr: 上清液蛋白质浓度, mg/mL, 需要另外测定; T: 催化反应时间, 10min; W: 样本质量, 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。
- 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。

实验实例:

1、取 0.1g 胰腺组织加入 1mL 试剂一匀浆研磨，取上清，之后按照测定步骤操作，用 96 孔板测得计算 ΔA 测定=A 测定管-A 空白管=0.9734-0.1213=0.8521，标准曲线 $y=0.0036x+0.0123$ ，则 $x=(0.8521-0.0123)\div 0.0036=233.278$ ，按样本质量计算酶活得：

$$\text{LPS (U/g 质量)} = 0.1 \times x \div W = 0.1 \times 233.278 \div 0.1 = 233.278 \text{ U/g 质量。}$$

相关发表文献：

[1] Jing Ge, Tao Han, Xiaoqiu Li, et al. S-adenosyl methionine regulates calcium channels and inhibits uterine smooth muscle contraction in rats with infectious premature delivery through the transient receptor protein 3/protein kinase C β /C-kinase-activated protein phosphatase-1 inhibitor of 17 kDa signaling pathway. *Experimental and Therapeutic Medicine*. July 2018; (IF1.410)

[2] Zhen X, Gao F, Li X, et al. Responses of hypocotyl growth and seedling emergence with respect to soil sowing depth stress in peanut (*Arachis hypogaea* L.)[J]. *Archives of Agronomy and Soil Science*, 2020: 1-17.