北京沃凯生物科技有限公司
全国免费电话:400-819-385
www.bjoka-vip.com
Tel:010-62971590. Fax:62340519
M-ail:postmaster@oka-vip.com

脂肪酶（LPS）活性试剂盒说明书

微量法 100T/96S

注意：正式测定之前选择 2-3 个预期差异大的样本做预测定。

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。

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。

自备仪器和用品：

研钵、台式离心机、震荡混匀器、可见分光光度计/酶标仪、微量石英比色皿/96 孔板、可调式移液枪、甲苯 80mL、冰和蒸馏水。

试剂组成和配制：

试剂一：液体 65mL×2 瓶，4℃保存。

试剂二：液体 10mL×1 瓶，4℃保存。**每次使用前用震荡混匀器剧烈震荡 20min。**

试剂三：甲苯 80mL×1 瓶，4℃保存（自备）。

试剂四：液体 10mL×1 瓶，4℃保存。

标准品：液体 10 μL×1 瓶，10 μmol/mL 的标准溶液，4℃保存。**临用前加入 3.168 mL 甲苯，充分溶解。**

粗酶液提取：

1. 组织：按照组织质量（g）：试剂一体积(mL)为 1：5~10 的比例（建议称取约 0.1g 组织，加入 1mL 试剂一）进行冰浴匀浆。12000g，4℃离心 10min，取上清置冰上待测。
2. 细菌、真菌：按照细胞数量（10^4 个）：试剂一体积（mL）为 500~1000：1 的比例（建议 500 万细胞加入 1mL 试剂一），冰浴超声波破碎细胞（功率 300w，超声 3 秒，间隔 7 秒，总时间 3min）；然后 12000g，4℃，离心 10min，取上清置于冰上待测。
3. 血清等液体: 直接检测。

LPS 测定操作：

1. 分光光度计/酶标仪预热 30 min，调节波长到 710 nm，蒸馏水调零。
2. 试剂一和试剂二置于 37℃水浴预热 30min。
3. 在 1.5mL EP 管中依次加入下列试剂

试剂名称（μL）	空白管	测定管
蒸馏水	150	
样本		50
试剂一	300	300
试剂二		100

37℃振荡反应 10 min

试剂三	800	800

37℃振荡反应 10 min 后，8000g，25℃，离心 10min，取上清液

试剂名称（μL）	空白管	测定管	标准管
上清液	400	400	
标准品			400
试剂四	100	100	100

37℃振荡反应 5 min 后，静置 5min，取 200μL 上层液加入微量石英比色皿/96 孔板，于 710nm

处测定吸光值。

注意：空白管和标准管只需测定一次。

LPS 活性计算公式：

1. 组织、细菌或细胞 LPS 活性

（1）按照蛋白浓度计算

活性单位定义：37℃中每毫克蛋白每分钟水解橄榄油生成 1μmol 脂肪酸为一个酶活单位。

LPS (μmol/min/mg prot) = [C 标准品×(A 测定管-A 空白管)÷（A 标准- A 空白管）]×V 反总÷（Cpr×V 样）÷T

=16×[(A 测定管－A 空白管)÷（A 标准管- A 空白管）]÷Cpr

（2）按照样本质量计算

活性单位定义：37℃中每克组织每分钟水解橄榄油生成 1μmol 脂肪酸为一个酶活单位。

LPS (μmol/min/g 鲜重) = [C 标准品×(A 测定管-A 空白管)÷（A 标准管- A 空白管）]×V 反总÷（W×V 样÷V 样总）÷T

=16×[(A 测定管－A 空白管)÷（A 标准管- A 空白管）]÷W

（3）按照细菌或者细胞数量计算

活性单位定义：37℃中每 10^4 个细胞每分钟水解橄榄油生成 1μmol 脂肪酸为一个酶活单位。

LPS (μmol /min/10^4cell) = [C 标准品×(A 测定管-A 空白管)÷（A 标准管- A 空白管）]×V 反总÷（细胞数量×V 样÷V 样总）÷T

=16×[(A 测定管－A 空白管)÷（A 标准管- A 空白管）]÷细胞数量

2. 血清等液体 LPS 活性

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

LPS (μmol /min/mL) = [C 标准品×(A 测定管－A 空白管)÷（A 标准管- A 空白管）]×V 反总÷V 样÷T

=16×[(A 测定管－A 空白管)÷（A 标准管- A 空白管）]

C 标准品：10 μmol/mL；V 反总：反应总体积，0.8mL；V 样：反应中加入样本体积，0.05mL；V 样总：加入提取液体积，1mL；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；W：样本质量，g；T：催化反应时间，10 min。