

## 脂肪酶(LPS)活性检测试剂盒

### Lipase Assay Kit

微量法

货号: AK239

规格: 100T/96S

产品组成及保存条件:

编号	规格	储存条件
AK239-A	120ml×1 瓶	4℃保存;
AK239-B	5mL×1 瓶	4℃保存; 临用前加入 440μL AK239-D, 充分溶解。
AK239-C	甲苯 100ml	自备;
AK239-D	5ml×1 瓶	4℃保存;
AK239-标准	标准品×1 瓶	室温保存; 临用前加入 3.168 mL 甲苯, 充分溶解即为: 10 μmol/mL 的标准溶液。

※ 正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定。

简介:

意义: 脂肪酶 (Lipase, 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。

原理: 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。

自备用品:

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。

粗酶提取:

1. 血清等液体: 可以直接检测。
2. 组织: 称取 100mg 组织, 加入 1mL AK239-A 进行冰浴匀浆。12000g, 4℃离心 15 分钟, 取上清置冰上, 待测。
3. 细胞: 500 万细胞加入 1mL AK239-A, 冰浴超声波破碎细胞 (功率 300w, 超声 4 秒, 间隔 8 秒, 总时间 3min); 然后 12000g, 4℃离心 15 分钟, 取上清置冰上待测。

测定步骤:

1. 分光光度计/酶标仪预热 30min, 调节波长到 710 nm, 蒸馏水调零。
2. AK239-A 和 AK239-B 置于 37℃水浴预热 30min。
3. 在 1.5mL 离心管中依次加入下列试剂

试剂名称	空白管 (μL)	测定管 (μL)	标准管 (μL)
蒸馏水	20		
上清液		20	
AK239-A	130	130	
AK239-B	50	50	
迅速震荡混匀, 置于 37℃水浴准确反应 10 min;			
AK239-C	400	400	
反复震荡混匀 10min, 25℃, 2000g 离心 10 min; 小心吸取上层溶液 300 μL, 加入 1.5mL 离心管中			
上述萃取液	300	300	

标准品			300
AK239-D	150	150	150
反复震荡 5min; 25℃, 2000g 离心 10 min, 小心吸取上层溶液 200μL, 于 710nm 处测定吸光值; 分别记为: A 空白管、A 测定管、A 标准管。			

**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 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 1 μmol 脂肪酸为一个酶活单位。

$$\text{LPS } (\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg prot}) = [\text{C 标准品} \times (\text{A 测定管} - \text{A 空白管}) \div \text{A 标准管}] \times \text{V 反总} \div (\text{Cpr} \times \text{V 样}) \div \text{T} \\ = 10 \times [(\text{A 测定管} - \text{A 空白管}) \div \text{A 标准管}] \div \text{Cpr}$$

※ 蛋白定量检测建议使用本公司: BCA Protein Assay Kit (C05-02001)

(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 1 μmol 脂肪酸为一个酶活单位。

$$\text{LPS } (\mu\text{mol}/\text{min}/\text{g}) = [\text{C 标准品} \times (\text{A 测定管} - \text{A 空白管}) \div \text{A 标准管}] \times \text{V 反总} \div (\text{W} \times \text{V 样} \div \text{V 样总}) \div \text{T} \\ = 10 \times [(\text{A 测定管} - \text{A 空白管}) \div \text{A 标准管}] \div \text{W}$$

#### 2. 细胞 LPS 活性

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

$$\text{LPS } (\mu\text{mol}/\text{min}/10^4 \text{ cell}) = [\text{C 标准品} \times (\text{A 测定管} - \text{A 空白管}) \div \text{A 标准管}] \times \text{V 反总} \div (\text{细胞数量} \times \text{V 样} \\ \div \text{V 样总}) \div \text{T} = 10 \times [(\text{A 测定管} - \text{A 空白管}) \div \text{A 标准管}] \div \text{细胞数量}$$

#### 3. 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 1 μmol 脂肪酸为一个酶活单位。

$$\text{LPS } (\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mL}) = [\text{C 标准品} \times (\text{A 测定管} - \text{A 空白管}) \div \text{A 标准管}] \times \text{V 反总} \div \text{V 样} \div \text{T} = 10 \times [(\text{A 测定管} - \text{A 空白管}) \div \text{A 标准管}]$$

**注:** C 标准品: 10 μmol/mL; V 反总: 反应总体积, 0.2mL; V 样: 反应中加入样本体积, 0.02mL; 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。

### 注意事项:

1. AK239-C 有一定毒性, 实验过程中需佩戴手套和口罩。
2. 实验过程中须远离火源。