脂肪酶（LPS)检测试剂盒（微量法）

货号：PMK1138BKM

保存：4℃避光保存 12 个月

规格：48T/48S 96T/96S

适用样本：动植物组织、细胞、真菌、细菌、血清（浆）等液体样本

产品简介

脂肪酶（LPS）又称甘油酯水解酶，隶属于羧基酯水解酶类，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。本试剂盒可检测各种生物样本中 LPS 活性，其原理是 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。

产品内容

试剂盒组分	规格		储存条件
	48 T	96 T	
试剂一	65mL×1 瓶	65mL×2 瓶	4℃保存
试剂二	5mL	10mL	4℃保存
试剂三	5mL	10mL	4℃保存
标准品	10uL	10uL	4℃保存

自备耗材

酶标仪或可见光分光光度计（能测 710nm 处的吸光度）
制冰机、台式离心机、摇床
96 孔板或微量玻璃比色皿、可调节式移液枪及枪头
甲苯、去离子水、无水乙醇
匀浆器（如果是组织样本）

试剂准备

试剂一：即用型；使用前，平衡到室温；4℃保存。
试剂二：即用型；使用前，平衡到室温；4℃保存。每次使用前剧烈震荡混匀。
试剂三：即用型；使用前，平衡到室温；4℃保存。
标准品：临用前加入 3.168mL 无水乙醇混匀得 10μmol/mL 的标准溶液，4℃保存。

样本制备

动植物组织：称取约 0.1g 样本，加入 1mL 试剂一，冰浴匀浆，12,000g，4℃离心 10min，取上清液，置冰上待测。
细胞或细菌：收集 500 万细胞到离心管内，用冷 PBS 清洗细胞，离心后弃上清，加入 1mL 试剂一，冰浴超声波破碎细胞 5min（功率 20%或 200W，超声 3s，间隔 7s，重复 30 次），然后 12,000g，4℃离心 10min，取上清液，置冰上待测。
血清（浆）等液体样本: 直接检测。
注意：推荐使用新鲜样本，如果不立即进行实验，样本可在-80℃保存 1 个月。对于脂肪含量较高的动物组织，离心后移除上层脂肪，再取上清液。如需测定蛋白浓度，推荐使用 BCA 法蛋白质定量试剂盒进行样本蛋白质浓度测定。

实验步骤

1. 酶标仪或分光光度计预热 30min 以上，调节波长到 710nm。分光光度计去离子水调零。
2. 试剂一和试剂二置于 37℃水浴预热 30min。
3. 样本测定（1.5mLEP 管中依次加入下列试剂）：

	测定（μL）	空白（μL）
样本	50	0
去离子水	0	150
试剂一	300	300
试剂二	100	0
37℃摇床上振荡反应 10min（没有摇床可以每 2min 上下混匀一次）		
甲苯	800	800
37℃摇床上振荡 10min 后，8000g，25℃，离心 10min，吸取上层有机相		

	测定（μL）	空白（μL）	标准（μL）
上清液	200	200	0
标准品	0	0	200
试剂三	50	50	50

37℃振荡反应 5min 后，静置 5min，取 100μL 上层液加入 96 孔板或微量玻璃比色皿，测定 710nm 处吸光值 A，空白管记为 $A_{空}$，标准管记为 $A_{标}$、测定管记为 $A_{测}$。计算 $\Delta A_{测}=A_{测}-A_{空}$，$\Delta A_{标}=A_{标}-A_{空}$。空白管和标准管只需测定一次。应在 15 分钟内完成测定。

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ΔA 小于 0.005 可适当加大样本量。如果ΔA 大于 0.6，样本可用试剂一进一步稀释（计算结果乘以稀释倍数），或减少提取用样本量。

结果计算

（1）按照样本质量计算

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

$LPS(U/g\ 鲜重)=[C_{标}\times(\Delta A_{测}\div\Delta A_{标})\times V_{甲苯}\div V_{反总}]\times V_{反总}\div(W\times V_{样}\div V_{样总})\div T=16\times(\Delta A_{测}\div\Delta A_{标})\div W$

（2）按照蛋白浓度计算

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

$LPS(U/mg\ prot)=[C_{标}\times(\Delta A_{测}\div\Delta A_{标})\times V_{甲苯}\div V_{反总}]\times V_{反总}\div(Cpr\times V_{样})\div T=16\times(\Delta A_{测}\div\Delta A_{标})\div Cpr$

（3）按照细菌或者细胞数量计算

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

$LPS(U/10^4cell)=[C_{标}\times(\Delta A_{测}\div\Delta A_{标})\times V_{甲苯}\div V_{反总}]\times V_{反总}\div(细胞数量\times V_{样}\div V_{样总})\div T=0.032\times(\Delta A_{测}\div\Delta A_{标})$

（4）桉液体体积计算

活性单位定义：37℃中每毫升液体样本在反应体系中每分钟水解橄榄油生成 1μmol 脂肪酸为一个酶活单位。

$LPS(U/mL)=[C_{标}\times(\Delta A_{测}\div\Delta A_{标})\times V_{甲苯}\div V_{反总}]\times V_{反总}\div V_{样}\div T=16\times(\Delta A_{测}\div\Delta A_{标})$

$C_{标}$：10μmol/mL；$V_{甲苯}$：反应后加入甲苯的体积，0.8mL；$V_{反总}$：反应体系总体积，0.45mL；$V_{样}$：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，W：样本质量，g；500：细胞或细菌总数，500 万；T：催化反应时间，10min。

注意事项

1. 实验过程中请穿戴实验服、口罩和乳胶手套。请按照生物实验室的国家安全规定进行实验，尤其是在检测血样或其他体液时。
2. 本试剂盒仅用于实验室科学研究，如果本试剂盒用于临床诊断或任何其他用途，我们将不对任何后果负责。
3. 本试剂盒应在有效期内使用，并请严格按照说明书进行存储。

4. 不同批次号、不同厂家之间的组分不要混用；否则，可能导致结果异常。
5. 勤换吸头，避免各组分之间的交叉污染。

相关产品：

PMK1142BKM 甘油三酯（TG）检测试剂盒（微量法）
PMK1143BKM 总胆固醇（TC）检测试剂盒（微量法）
PMK1144BKM 游离胆固醇（FC）检测试剂盒（微量法）
PMK1137BKM 游离脂肪酸（FFA）检测试剂盒（微量法）
PMK1151BKM 血清高密度脂蛋白（HDL-C）检测试剂盒（微量法）
PMK1152BKM 血清低密度脂蛋白（LDL-C）检测试剂盒（微量法）

更多产品详情了解，请关注公众号：