

脂肪酶(LPS)活性检测试剂盒

Lipase Assay Kit

分光光度法

货号: AK238

规格: 50T/48S

产品组成及保存条件:

| 编号 | 规格 | 储存条件 |
|-----------|----------|---|
| AK238-A | 80ml×1 瓶 | 4℃保存; |
| AK238-B | 10mL×1 瓶 | 常温保存; |
| AK238-C | 20ml×1 瓶 | 4℃保存; |
| AK238-标准品 | 标准品×1 支 | 4℃保存, 临用前加入 1.5 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。 |

※ 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、1mL 玻璃比色皿、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 AK238-A 进行冰浴匀浆, 15000rpm, 4℃离心 30min, 取上清置冰上待测。

测定步骤:

1. 分光光度计预热 30min, 调节波长到 710 nm, 甲苯调零。
2. AK238-A 和 AK238-B 置于 37℃水浴预热 30min。
3. 标准溶液的稀释: 将 125 μmol/mL 的油酸标准溶液用无水乙醇稀释为 125、62.5、31.25、15.625、7.8125、3.9 μmol/mL 的标准溶液待测。
4. 操作表:

| 试剂名称 | 空白管 (μL) | 测定管 (μL) | 标准管 (μL) |
|---|----------|----------|----------|
| AK238-A | 375 | 375 | 375 |
| AK238-B | 125 | 125 | 125 |
| 反复震荡混匀 | | | |
| 蒸馏水 | 200 | | |
| 上清液/血清 | | 200 | |
| 标准溶液 | | | 200 |
| 迅速震荡混匀后置于 37℃水浴准确反应 10 min | | | |
| 甲苯 | 1000 | 1000 | 1000 |
| 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 | | | |

| AK238-C | 225 | 225 | 225 |
|---|-----|-----|-----|
| 反复震荡混匀；室温 4000rpm 离心 10min，小心吸取上层溶液 800 μ L，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。 | | | |

LPS 活性计算公式：

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. LPS 活性计算：

- (1) 按照蛋白浓度计算

活性单位定义：37 $^{\circ}\text{C}$ 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。

$$\text{LPS (U/mg prot)} = x \times V_{\text{样}} \div (\text{Cpr} \times V_{\text{样}}) \div T = 0.1 \times x \div \text{Cpr}$$

※ 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 $^{\circ}\text{C}$ 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。

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

- (3) 按血清计算

活性单位定义：37 $^{\circ}\text{C}$ 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。

$$\text{LPS (U/mL 血清)} = x \div T = 0.1 \times x$$

注： V 样：加入反应体系中上清液体积，0.2mL；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。
3. 当吸光度大于 1 时，建议将样本稀释后测量。