

脂肪酶（LPS）活性试剂盒说明书

微量法100/96S

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<sup>4</sup>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°C振荡反应10 min

试剂三	800	800
-----	-----	-----

37°C振荡反应10 min后，8000g，25°C，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°C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°C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。

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

$$= 16 \times [(\text{A测定管} - \text{A空白管}) \div (\text{A标准管} - \text{A空白管})] \div \text{Cpr}$$

##### (2) 按照样本质量计算

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

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

$$= 16 \times [(\text{A测定管} - \text{A空白管}) \div (\text{A标准管} - \text{A空白管})] \div \text{W}$$

##### (3) 按照细菌或者细胞数量计算

活性单位定义：37°C中每104个细胞每分钟水解橄榄油生成1μmol脂肪酸为一个酶活单位。

$$\text{LPS } (\mu\text{mol} / \text{min}/104\text{cell}) = [\text{C标准品} \times (\text{A测定管} - \text{A空白管}) \div (\text{A标准管} - \text{A空白管})] \times \text{V反总} \div (\text{细胞数量} \times \text{V样} \div \text{V样总}) \div \text{T}$$

$$= 16 \times [(\text{A测定管} - \text{A空白管}) \div (\text{A标准管} - \text{A空白管})] \div \text{细胞数量}$$

#### 2. 血清等液体LPS活性

活性单位定义：37°C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。

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

$$= 16 \times [(\text{A测定管} - \text{A空白管}) \div (\text{A标准管} - \text{A空白管})]$$

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.

---

[www.affandi-e.com](http://www.affandi-e.com)