脂肪酶（LPS）活性检测试剂盒说明书

规格：48 样　　方法：酶标仪法

一、注意事项

1. 使用前请通读一遍说明书再开始实验。
2. 正式检测前选取 2~3 个样本进行预检测。
3. 本试剂盒仅用于科研。

二、产品组分

试剂名称	试剂规格	保存条件	备注
试剂一	68 mL×1	4℃	
试剂二	5 mL×1	4℃	每次使用前用震荡混匀器剧烈震荡 20 min
试剂三	45 mL×1	4℃	甲苯，自备
试剂四	5 mL×1	4℃	
标准品	10 μL×1	4℃	临用前加入 3.168 mL 甲苯，充分溶解

标准品为 10 μmol/mL 浓度的标准溶液。

三、仪器和用品

酶标仪、96 孔板、移液器、天平、可降温离心机、超纯水/蒸馏水、研磨仪/研钵、冰、水浴锅。

四、样品制备

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 0.1 g 组织，加入 1 mL 试剂一）进行冰浴匀浆，然后，10000 g，4℃，离心 10 min，置于冰上，上清为待测样本。

2. 细菌/细胞：按照细菌/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 1 mL 试剂一），冰浴超声波破碎细胞（功率 200 w，超声 3 秒，间隔 10 秒，重复 30 次）；然后 10000 g，4℃，离心 10 min，置于冰上，上清为待测样本。

3. 液体样本：直接测定。

五、测定步骤

1. 酶标仪预热 30 min 以上，波长调至 710 nm 处。

2. 试剂一和试剂二置于 37℃水浴预热 30 min。

3. 在 1.5 mL 离心管中依次加入：

	测定管	空白管
样本（μL）	50	-
超纯水（μL）	-	150
试剂一（μL）	300	300
试剂二（μL）	100	-
37℃振荡反应 10 min。		
试剂三（甲苯）（μL）	800	800
37℃振荡反应 10 min 后，8000g，常温，离心 10 min，取上清液，在新的 1.5 mL 离心管中加入下列上清及试剂。		

	测定管	空白管	标准管
上清液（μL）	400	400	-
标准品（μL）	-	-	400
试剂四（μL）	100	100	100
37℃振荡反应 5 min 后，静置 5 min，取 200 μL 上层液加入 96 孔板，于 710 nm 处测定吸光值，记 A 测定、A 空白、A 标准，ΔA 测定=A 测定-A 空白，ΔA 标准=A 标准-A 空白。**注意：空白管和标准管只需测定 2~3 次。**			

六、计算

1. 按照液体样本体积计算：

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。

脂肪酶（LPS）活性（μmol /min/mL）=（C 标准品×ΔA 测定÷ΔA 标准）×V 反总÷V 样÷T =16×ΔA 测定÷ΔA 标准

2. 按照样本质量计算：

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。

脂肪酶（LPS）活性（μmol/min/g 鲜重）=（C 标准品×ΔA 测定÷ΔA 标准）×V

反总÷（W×V 样÷V 样总）÷T =16×ΔA 测定÷ΔA 标准÷W

3. 按照蛋白质浓度计算（需另测蛋白浓度）：

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。

脂肪酶（LPS）活性（μmol/min/mg prot）=（C 标准品×ΔA 测定÷ΔA 标准）×V 反总÷（Cpr×V 样）÷T =16×ΔA 测定÷ΔA 标准÷Cpr

4. 按细菌/细胞数量计算：

单位定义：37℃中每 10^4 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。

脂肪酶（LPS）活性（μmol /min/10^4 cell）= （C 标准品×ΔA 测定÷ΔA 标准）×V 反总÷（细胞数量×V 样÷V 样总）÷T =16×ΔA 测定÷ΔA 标准÷N

C 标准品：10 μmol/mL；V 反总：反应总体积，0.8 mL；V 样：反应中加入样本体积，0.05 mL；V 样总：加入提取液体积，1 mL；Cpr：上清液蛋白质浓度，mg/mL；W：样本质量，g；T：催化反应时间，10 min；N：细胞数量，万个。

七、产品简介

脂肪酶是植物、动物和微生物体内广泛存在的一类水解酶，属酯酶家族，以可溶态或与膜结合形式存在于植物细胞质、脂质体及胞外基质中。主要功能是催化甘油三酯水解生成游离脂肪酸和甘油，是植物体内脂质降解和动员的关键酶，在种子萌发期储存油脂的分解、幼苗发育及能量供给中发挥核心作用，其活性与植物脂质代谢、果实成熟及逆境（低温）胁迫响应密切相关，是评价植物脂质降解活性及种子萌发期碳源动员能力的重要酶学指标。