脂肪酶（LPS）活性试剂盒说明书

（微板法 96 样）

一、产品简介：

脂肪酶(EC 3.1.1.3)是一种特殊的酯键水解酶，能催化天然油脂水解,，在食品、医药、洗涤剂和皮革等许多工业领域中都有广泛的应用,

本试剂盒提供一种简单、快速的检测方法，以对硝基苯酚酯作为底物，脂肪酶水解底物产生具有颜色的对硝基苯酚，在405nm波长下测定其吸光值，即可得出脂肪酶活力。

二、试剂盒的组成和配制：

试剂名称	规格	保存要求	备注
提取液	液体 100mL×1 瓶	4℃保存	
试剂一	A 液：μL×4 支 B 液：8mL×1 瓶	-20℃保存	临用前甩几下，使微量 A 液体落到底部，再向每支 A 液中加入 1.8mLB 液，混匀备用，用不完的试剂可-20℃分装保存。
试剂二	液体 15mL×1 瓶	4℃保存	
标准品	粉体 mg×1 支	4℃保存	若重新做标曲，则用到该标曲。

三、所需的仪器和用品：

酶标仪、96 孔板、研钵、低温离心机、可调式移液枪、冰和蒸馏水。

四、脂肪酶（LPS）活性测定：

建议正式实验前选取 2 个样本做预测定，了解本批样品情况，熟悉实验流程，避免实验样本和试剂浪费！

1、样本制备：

① 组织样本：

称取约 0.1g 组织（含水量高的样本可取 0.5g）加入研钵中，加入 1mL 提取液，在冰上进行匀浆，12000rpm，4℃离心 10min，取上清，置冰上待测。

【注】：若增加样本量，可按照组织质量（g）：提取液体积(mL)为 1：5~10 的比例进行提取。

② 细菌/细胞样本：

先收集细菌或细胞到离心管内，离心后弃上清；取 500 万细菌或细胞加入 1mL 提取液；冰浴超声波破碎细菌或细胞（冰浴，功率 300w，超声 3 秒，间隔 7 秒，总时间 3min）；然后 12000rpm，4℃离心 10min，取上清置于冰上待测。

【注】：若增加样本量，可按照细菌或细胞数量（10^4 个）：提取液（mL）为 500~1000：1 的比例进行提取。

③ 液体样本：直接检测。若浑浊，离心后取上清检测。

2、上机检测：

① 酶标仪预热 30 min，调节波长到 405 nm。

② 在 96 孔板中依次加入：

试剂名称（μL）	测定管
试剂一	60
试剂二	130
样本	10
混匀，30℃条件下，立即于 405nm 处读取吸光值 A1，10min 后读取 A2，△A=A2-A1。	

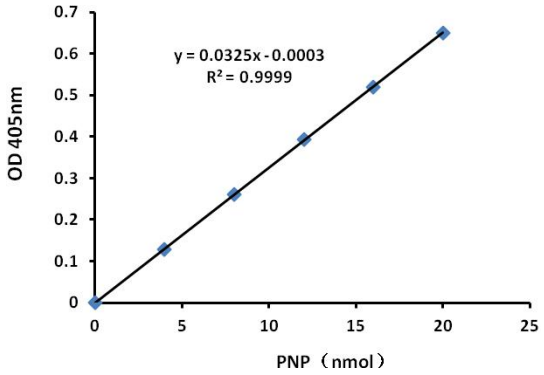
【注】1. 若ΔA 值在零附近，可以延长反应时间 T（如至 20min），或增加样本量 V1（如 30μL，则试剂二相应减少）；若 10min 后的 A2 值大于 1.5 或更高可缩短反应时间 T（如减至

5min 或更短）；则改变后的反应时间 T 和样本量 V1 需代入公式重新计算。

2. 若样本自身色素较高，导致起始 A1 值大于 1.0，则可减少样本量 V1（如减至 5μL，则试剂二相应增加），则改变后的样本量 V1 需代入公式重新计算。

五、结果计算：

1、标准曲线方程：y = 0.0325x - 0.0003，x 是标准品摩尔质量（nmol），y 是ΔA。



2、按照蛋白浓度计算：

酶活定义：每毫克组织蛋白每分钟释放出 1nmol 对硝基苯酚的酶量定义为一个酶活力单位。

LPS (nmol/min/mg prot) = [(ΔA+0.0003)÷0.0325]÷（Cpr×V1）÷T=307.7×(ΔA+0.0003)÷Cpr

3、按照样本质量计算：

酶活定义：每克组织每分钟释放出 1nmol 对硝基苯酚的酶量定义为一个酶活力单位。

LPS (nmol/min/g 鲜重) =[(ΔA+0.0003)÷0.0325]÷（W×V1÷V）÷T=307.7×(ΔA+0.0003)÷W

4、按照细菌/细胞数量计算：

酶活定义：每 10^4 个细胞每分钟释放出 1nmol 对硝基苯酚的酶量定义为一个酶活力单位。

LPS (nmol/min/10^4cell) = [(ΔA+0.0003)÷0.0325]÷（500×V1÷V）÷T=0.615×(ΔA+0.0003)

5、按照液体样本计算：

酶活定义：每毫升液体每分钟释放出 1nmol 对硝基苯酚的酶量定义为一个酶活力单位。

LPS (nmol/min/mL) = [(ΔA+0.0003)÷0.0325]÷V1÷T=307.7×(ΔA+0.0003)

V---加入提取液体积，1mL； V1---加入样本体积，0.01mL；

T---反应时间，10 min。 500---细菌/细胞数量； W---样本质量，g；

Cpr---上清液蛋白质浓度，mg/mL，建议使用本公司 BCA 蛋白质含量测定试剂盒；

附：标准曲线制作过程：

1 制备标准品母液（20μmol/mL）：向标准品 EP 管里面加入 1ml 蒸馏水。

2 把母液稀释成以下浓度梯度的标准品：0, 0.4, 0.8, 1.2, 1.6, 2μmol/mL。也可根据实际样本来调整标准品浓度。

3 在 96 孔板中加入：10μL 标准品+40μL 的 B 液+150μL 试剂二，混匀，于 405nm 下读取吸光值，根据结果制作标准曲线。