

CheKine™ 脂肪酶（LPS）活性检测试剂盒（微量法）

货号: KTB2241

规格: 48 T/48 S

96 T/96 S

批号: 见产品标签

	适用样本: 动植物组织、细胞、血清（浆）
	保质期: 4℃, 避光保存 6 个月

01 背景与原理

脂肪酶（LPS, EC 3.1.1.3）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。

本试剂盒检测原理是 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。

02 包装清单

试剂盒组分	规格		储存要求
	48 T	96 T	
Reagent I	80 mL	80×2 mL	4℃
Reagent II	6 mL	12 mL	4℃, 避光保存
Reagent III	6 mL	12 mL	4℃, 避光保存
Standard	25 μL	25 μL	4℃

*请在实验前检查各组分的量。

*各组分在规格基础上额外提供 10%的量用于进行标准曲线制作或预实验。

03 自备仪器与试剂

自备资源类型	资源名称	备注
仪器	酶标仪	能测 710 nm 处的吸光度
耗材	96 孔酶标板	非聚苯乙烯材质
试剂	PBS、去离子水、甲苯	清洗样本/空白孔/标准品配制用
其他	匀浆器（组织样本）、超声破碎仪、制冰机、恒温箱、震荡混匀器、低温离心机、可调节式移液枪及枪头	检测量较大时合理使用多通道移液器有助于提高实验效率

04 注意事项

- 正式检测前，建议选择 **2-3** 个预期差异较大的样本进行预实验。
- 对于组织样本及细胞样本等，可通过测定蛋白浓度来进行样本间结果均一化。推荐使用亚科因货号：KTD3001 的蛋白质定量试剂盒（BCA 法）。
- 高脂样本离心后若上清液之上有固态脂类，需用棉签等擦除后测定。
- 本试剂盒兼容分光光度计检测，请按照分光光度计检测要求按比例调节检测试剂配制量。如有疑问，可咨询本司技术人员（400-6800-830）。
- 生化检测试剂普遍具有刺激性、生物毒性等，为了您的安全和健康，请在实验全程做好生物安全防护，穿戴实验服、口罩、手套、头套等安全护具，在通风橱、生物安全柜中进行实验，实验过程中须远离火源。
- 本产品仅供科学研究使用，不适用于临床诊断。

05 实验流程

05-1 试剂准备

05-1-1 试剂准备

试剂名称	试剂准备	注意事项
Reagent I	即用型；使用前平衡到室温	4℃保存
Reagent II	即用型；使用前平衡到室温，用震荡混匀器剧烈震荡 20 min	4℃避光保存，有刺激性气味，建议在通风橱进行试验
Reagent III	即用型；使用前平衡到室温	4℃避光保存，有刺激性气味，建议在通风橱进行试验
10 μmol/mL Standard	临用前配制；使用前，平衡到室温；取 10 μL Standard 加入 3.168 mL 甲苯，充分溶解即为 10 μmol/mL 的油酸标准溶液	未用完的试剂 4℃保存一个月。 Standard 在 4℃为白色固体，平衡到室温后为淡黄色透明液体。甲苯有毒，建议在通风橱进行实验

05-2 样本制备

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。测定时，应控制解冻的温度和时间。室温环境下解冻时，需在 **4 h** 内完成样品解冻。

- **动植物组织**：称取约 0.1 g 组织样本，加入 1 mL Reagent I，冰浴匀浆，12000 g，4℃离心 10 min，取上清，置冰上待测。
- **细胞样本**：收集 1×10^7 个细胞，用冷 PBS 清洗细菌或细胞，800 g 离心 2 min，弃上清液。加入 1 mL Reagent I，冰浴超声波破碎细胞 5 min（功率 20%或 200 W，超声 3 s，间隔 7 s，重复 30 次），12000 g，4℃离心 10 min，取上清，置冰上待测。
- **血清（浆）**：直接测定。

05-3 实验步骤

1. **酶标仪准备**：预热 30 min 以上，调节波长到 710 nm。
2. **检测体系配制**：在 1.5 mL EP 管中按照如下方式操作。空白管和标准管一般只做 1 次。

试剂	空白管 (μL)	测定管 (μL)	标准管 (μL)
去离子水	150	0	0
样本	0	50	0
Reagent I	300	300	0
Reagent II	0	100	0
37℃振荡反应 10 min			
甲苯	800	800	0
37℃振荡反应 10 min 后, 8000 g, 25℃, 离心 10 min, 取上清液			
上清液	400	400	0
Standard	0	0	400
Reagent III	100	100	100
37℃振荡反应 5 min 后, 静置 5 min			

3. 吸光度检测: 取 200 μL 上层液加入 96 孔板 (非聚苯乙烯材质), 于 710 nm 处测定吸光值, 分别记为 A_{空白}、A_{测定}和 A_{标准}。

06 结果计算

06-1 自动计算

为帮助您更轻松、准确地完成相关计算, 我们特在官网提供了“在线计算器小工具”。您无需手动计算, 只需在网页上输入数值, 即可快速获得可靠结果。访问方式: 请扫描右侧二维码或访问官网[\[https://www.abbkine.cn\]](https://www.abbkine.cn)>进入“技术中心”>查找“在线计算器”工具。



06-2 手动计算

以下为您提供的推导过程计算公式和简洁计算公式, 两者完全相等。

1. 数据处理

计算 $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}$, $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}$ 。

2. 样本 LPS 活性计算

● 按样本质量计算

活性单位定义: 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。

$$\text{LPS (U/g)} = (C_{\text{标准}} \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}}) \times V_{\text{反应}} \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 16 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div W$$

● 按细胞数量计算:

活性单位定义: 37℃ 中每 10⁴ 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。

$$\text{LPS (U/10}^4\text{)} = (C_{\text{标准}} \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}}) \times V_{\text{反应}} \div (N \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 16 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div N$$

● 按液体体积计算

活性单位定义: 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。

$$\text{LPS (U/mL)} = (C_{\text{标准}} \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}}) \times V_{\text{反应}} \div V_{\text{样}} \div T = 16 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}}$$

● 按蛋白浓度数量计算

活性单位定义: 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。

$$\text{LPS (U/mg prot)} = (C_{\text{标准}} \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}}) \times V_{\text{反应}} \div (C_{\text{pr}} \times V_{\text{样}}) \div T = 16 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div C_{\text{pr}}$$

C_{标准}: 标准品的浓度, 10 μmol/mL; V_{反应}: 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}

总：加入 Reagent I 体积，1 mL；Cpr：上清液蛋白质浓度，mg/mL；W：样本质量，g；N：细胞数量，以 10^4 为单位（例如细菌数量为 1×10^7 ，N=1000）；T：催化反应时间，10 min。

07 结果展示

示例-1: 取 0.148 g 玉米种子，按照测定步骤操作，用 96 孔板（非聚苯乙烯材质）进行检测。测得 $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}} = 0.054 - 0.0423 = 0.0117$ ， $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}} = 0.724 - 0.0423 = 0.6817$ 。按样本质量计算得：LPS (U/g) = $(C_{\text{标准}} \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}}) \times V_{\text{反应}} \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 16 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div W = 1.855 \text{ U/g}$ 。

08 FAQ

● 检测得到的样本 $\Delta A_{\text{测定}}$ 过高或者过低怎么办？

如果样本 $\Delta A_{\text{测定}} > 1.0$ ，样本需用 Reagent I 适当稀释或减少提取用样本量，重新进行测定。如果样本的 $\Delta A_{\text{测定}} < 0.01$ ，可提高样本量。

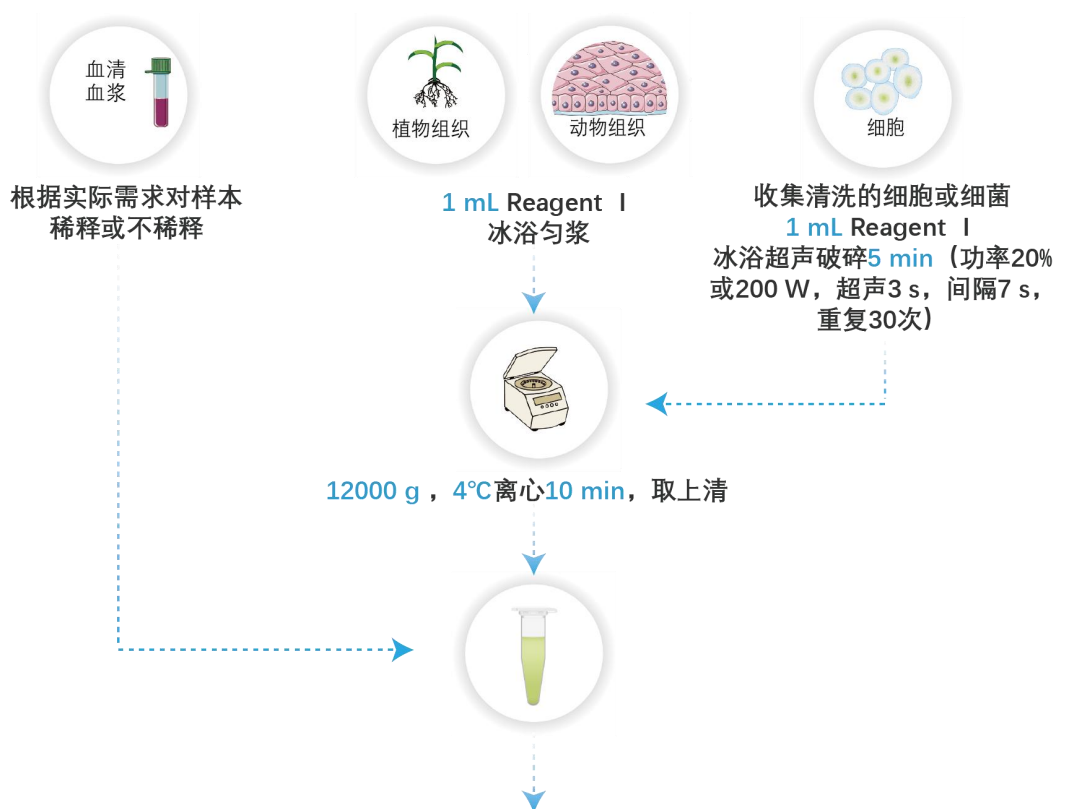
09 相关产品

货号	试剂盒名称
KTB1015	CheKine™ α -葡萄糖苷酶活性检测试剂盒（微量法）
KTB1121	CheKine™ 丙酮酸（PA）含量检测试剂盒（微量法）

CheKine™ 脂肪酶（LPS）活性检测流程示意图

(Abbkinine 货号：KTB2241)

样本处理



体系配置



数据检测

