

## Lipase Activity Assay Kit

### 脂肪酶(LPS)活性检测试剂盒 微板法

产品编号	产品名称	规格
BL1841B	脂肪酶(LPS)活性检测试剂盒 微板法	96T

#### 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。

#### 产品组成:

试剂名称	规格	保存要求	备注
提取液	100mL×1 瓶	4°C保存	
试剂一 A	液体×4 支	-20°C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 1.2mL B 液,混匀备用,用不完的试剂可-20°C分装保存。
试剂一 B	5mL×1 瓶	-20°C保存	
试剂二	15mL×1 瓶	4°C保存	
标准品	粉末×1 支	4°C保存	若重新做标曲,则用到该标曲。

#### 使用方法:

##### 一、样本准备

###### 1. 组织样本:

(a) 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;

(b) 12000rpm, 4°C离心 10min, 取上清, 置冰上待测。

【注】根据研究需求,可按组织质量(g): 提取液体积(mL)为 1:10 的比例进行提取。

###### 2. 细胞/细菌样本:

(a) 先收集细菌或细胞到离心管内,离心后弃上清;

(b) 取  $5 \times 10^6$  个细菌或细胞加入 1mL 提取液,超声波破碎细菌或细胞(冰浴,功率 200W,超声 3s,间隔 10s,重复 30 次);

(c) 12000rpm 4°C离心 10min, 取上清, 置冰上待测。

【注】:若增加样本量,按照每  $0.5 \sim 1 \times 10^7$  个细菌/细胞加入 1mL 提取液进行提取。

###### 3. 液体样本:

澄清的液体样本直接检测,若浑浊则离心后再取上清液检测。

##### 二、样品测定

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	40
试剂二	15
样本	10
混匀, 30°C条件下, 立即于 405nm 处读取	

Note: For in vitro research use only, not for diagnostic or therapeutic use, This product is not a medical device.

注意:在体外研究使用,不用于诊断或治疗用途,本产品不是医疗装置。

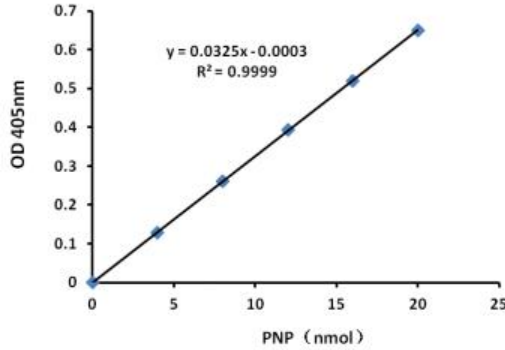


吸光值 A1, 10min 后读取 A2,  $\Delta A = A2 - A1$ 。

- 【注】** 1. 若  $\Delta A$  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 30 $\mu$ L, 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 5 $\mu$ L, 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。

### 三、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  $\Delta A$ 。



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。

$$\text{LPS (nmol/min/mg prot)} = [(\Delta A + 0.0003) \div 0.0325] \div (\text{Cpr} \times V1) \div T = 307.7 \times (\Delta A + 0.0003) \div \text{Cpr}$$

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。

$$\text{LPS (nmol/min/g 鲜重)} = [(\Delta A + 0.0003) \div 0.0325] \div (W \times V1 \div V) \div T = 307.7 \times (\Delta A + 0.0003) \div W$$

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。

$$\text{LPS (nmol/min/10}^4\text{cell)} = [(\Delta A + 0.0003) \div 0.0325] \div (500 \times V1 \div V) \div T = 0.615 \times (\Delta A + 0.0003)$$

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。

$$\text{LPS (nmol/min/mL)} = [(\Delta A + 0.0003) \div 0.0325] \div V1 \div T = 307.7 \times (\Delta A + 0.0003)$$

V---加入提取液体积, 1mL

V1---加入样本体积, 0.01mL

W---样本质量, g

T---反应时间, 10 min

500---细菌/细胞数量, 万

Cpr---上清液蛋白质浓度, mg/mL

### 附: 标准曲线制作过程:

1. 制备标准品母液 (20 $\mu$ mol/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, 2 $\mu$ mol/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: 10 $\mu$ L 标准品+40 $\mu$ L 的 B 液+150 $\mu$ L 试剂二, 混匀, 于 405nm 下读取吸光值, 根据结果制作标准曲线。

### 注意事项:

1. 本产品仅限于专业人员的科学研究用, 不得用于临床诊断或治疗, 不得用于食品或药品。
2. 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。

### 有效期:

4 $^{\circ}$ C 保存六个月。

Note: For in vitro research use only, not for diagnostic or therapeutic use, This product is not a medical device.

注意: 在体外研究使用, 不用于诊断或治疗用途, 本产品不是医疗装置。

