（本试剂盒仅供体外研究使用，不用于临床诊断！）

**产品货号：E-BC-K786-M**

**产品规格：48T(24 samples)/96T(48 samples)**

**检测仪器：酶标仪(400-420 nm)**

# Elabscience®脂肪酶(LPS)比色法测试盒

# Lipase (LPS) Activity Assay Kit

使用前请仔细阅读说明书。如果有任何问题，请通过以下方式联系我们：

电话：400-999-2100

邮箱：biochemical@elabscience.cn

网址：www.elabscience.cn

具体保质期请见试剂盒外包装标签。请在保质期内使用试剂盒。

联系时请提供产品批号(见试剂盒标签)，以便我们更高效地为您服务。

## 用途

本试剂盒适用于检测血清、血浆、动物组织和细胞样本中脂肪酶活力。

## 检测原理

脂肪酶能够催化底物产生巯基化合物，巯基化合物与显色底物 DTNB 反应生成 TNB，TNB 在 412 nm 处有最大吸收，通过检测单位时间内吸光度的变化情况来计算出样本中脂肪酶活力大小。

本试剂盒检测组织或细胞样本时，需测定总蛋白浓度，推荐使用本公司 BCA 试剂盒(货号 E-BC-K318-M)进行测定。

## 提供试剂和物品

| 编号 | 名称 | 规格 1 (Size 1)(48T) | 规格 2 (Size 2)(96T) | 保存方式 (Storage) |
|---|---|---|---|---|
| 试剂一 (Reagent 1) | 缓冲液 (Buffer Solution) | 30 mL×1 瓶 | 60 mL×1 瓶 | 2-8°C 保存 6 个月 |
| 试剂二 (Reagent 2) | 抑制剂 (Inhibitor) | 0.5 mL×1 支 | 1 mL×1 支 | 2-8°C 保存 6 个月 |
| 试剂三 (Reagent 3) | 底物 (Substrate) | 3 mL×1 瓶 | 5 mL×1 瓶 | 2-8°C 保存 6 个月 |
| 试剂四 (Reagent 4) | 显色剂 (Chromogenic Agent) | 0.9 mL×1 支 | 1.8 mL×1 支 | 2-8°C 避光 保存 6 个月 |
| | 96 孔酶标板 | 48 孔×1 块 | 96 孔×1 块 | 无要求 |
| | 96 孔覆膜 | 2 张 | | |
| | 样本位置标记表 | 1 张 | | |

说明：试剂严格按上表中的保存条件保存，不同测试盒中的试剂不能混用。

对于体积较少的试剂，使用前请先离心，以免量取不到足够量的试剂。

## 所需自备物品

**仪器：**酶标仪(400-420 nm，最佳检测波长 412 nm)，恒温箱(37°C)，4°C离心机

**试剂：**无水乙醇(99.5%)

## 试剂准备

① 检测前，所有的试剂平衡至室温。

② 试剂二工作液的配制：

取一支试剂二与无水乙醇按体积比 1: 9 进行稀释，稀释好的试剂二工作液待用，按需配制，未用完部分可 2-8°C 保存 7 天。

③ 试剂三工作液的配制：

取试剂二工作液与试剂三按体积比 1：100 配制混匀，按需配制，现配现用，配好的溶液 1 h 内用完。

④ 试剂四工作液的配制：

取试剂四与双蒸水按体积比 1: 9 进行稀释，按需配制，现配现用，使用过程注意避光。

## 样本准备

### ① 样本处理

血清(浆)样本：直接测定，若样本浑浊，10000 × g 离心 10 min 后取上清待用。

组织样本：组织样本的匀浆介质为试剂一，若离心后上清液浑浊，可将上清重复离心至清澈，取上清待用。

细胞样本：取收集好的细胞样本，离心弃细胞上清，取 $10^6$ 个细胞加入 0.2 mL 试剂一进行匀浆，4°C，10000 × g 离心 10 min，取上清待测。

### ② 样本的稀释

在正式检测前，需选择2-3个预期差异大的样本稀释成不同浓度进行预实验，根据预实验的结果，结合本试剂盒的线性范围：0.03-9.41 U/L，可参考下表进行稀释(仅供参考)：

| 样本 | 稀释倍数 | 样本 | 稀释倍数 |
|---|---|---|---|
| 10%小鼠肝脏组织 | 6-10 | 10%大鼠脑组织 | 2-6 |
| 10%大鼠肾脏组织 | 3-6 | 10%大鼠肝脏组织 | 5-10 |
| 10%大鼠心组织 | 2-5 | 10%大鼠肺组织 | 3-6 |
| 10%大鼠脾组织 | 2-5 | 10%小鼠肺组织 | 3-6 |
| 人血清 | 7-10 | 人血浆 | 2-6 |

注：稀释液为试剂一。

## 实验关键点

① 试剂三工作液需要现配现用，在 1 h 内使用完。

② 孵育反应后产物有一定刺激气味，原因是底物生成巯基化合物，可在通风条件下加入试剂四工作液。

## 操作步骤

① 对照孔：取 10 μL 待测样本加入到酶标板相应孔中。

测定孔：取 10 μL 待测样本加入到酶标板相应孔中。

② 向步骤①中对照孔加入 40 μL 试剂一，测定孔加入 40 μL 试剂三工作液。

③ 振板 5 s，37°C 孵育 20 min。

④ 向步骤③对照孔和测定孔中各加入 150 μL 试剂四工作液。

⑤ 振板 5 s，37°C 避光孵育 30 min，酶标仪 412 nm 处测定各孔的 OD 值。

## 操作表

| | **对照孔** | **测定孔** |
|---|---|---|
| 待测样本(μL) | 10 | 10 |
| 试剂一(μL) | 40 | |
| 试剂三工作液(μL) | | 40 |
| 振板 5 s，37°C 孵育 20 min。 | | |
| 试剂四工作液(μL) | 150 | 150 |
| 振板 5 s，37°C 避光孵育 30 min，酶标仪 412 nm 处测定各孔 OD 值。 | | |

**本试剂盒检测组织和细胞样本时，需测定总蛋白浓度，推荐使用本公司 BCA 试剂盒(货号 E-BC-K318-M)进行测定。**

## 结果计算

**标准品拟合曲线：** $y = ax + b$

**组织与细胞样本 LPS 酶活计算：**

**定义：** 37°C 条件下，每克组织蛋白每分钟水解底物生成 1 μmol TNB 所需要的 LPS 酶量为一个酶活力单位。

$$\text{LPS 酶活 (U/gprot)} = \frac{\Delta A}{\varepsilon \times b} \div C_{pr} \times f \div T \times 10_6$$

**血清血浆样本 LPS 酶活计算：**

**定义：** 37°C 条件下，每升血清血浆样本每分钟水解底物生成 1 μmol TNB 所需要的 LPS 酶量为一个酶活力单位。

$$\text{LPS 酶活 (U/L)} = \frac{\Delta A}{\varepsilon \times b} \times f \div T \times 10_6$$

**注解：**

ΔA：测定孔 OD 值-对照孔 OD 值

ε：摩尔吸光系数，14150 $L \cdot mol^{-1} \cdot cm^{-1}$

b：反应体系的高度，0.6 cm

T：孵育反应时间，20 min

$C_{pr}$：组织样本蛋白浓度：gprot/L

f：样本加入检测体系前的稀释倍数

$10^6$：1 mol/L = $10^6$ μmol/L

# 附录1 关键数据

## 1. 技术参数

| | | | |
|---|---|---|---|
| **检测范围** | 0.03-9.41 U/L | **平均批间差** | 6.0 % |
| **灵敏度** | 0.03 U/L | **平均批内差** | 3.0 % |
| **平均回收率** | 105 % | | |

# 附录2 实例分析

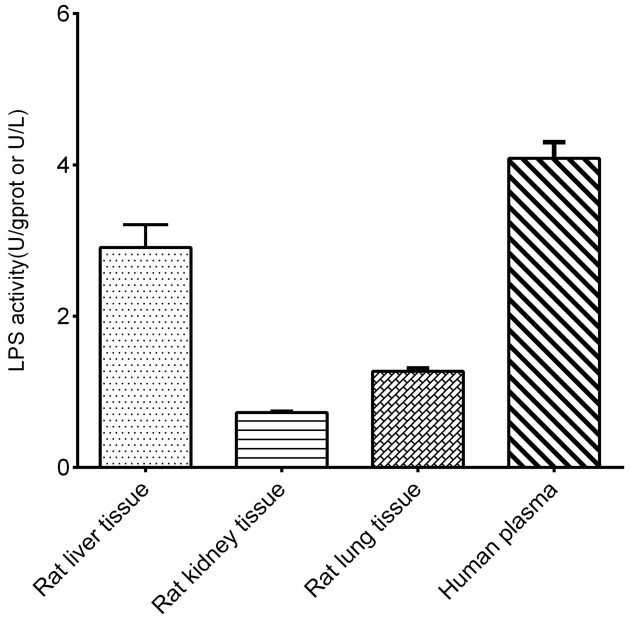
**例如检测大鼠肝组织(数据仅供参考)：**

取10%大鼠肝脏组织样本匀浆，稀释5倍，按操作表操作，结果如下：

样本对照孔OD值为0.429，样本测定孔OD值为1.513，ΔA=1.513 - 0.429 = 1.084，10%大鼠肝脏组织匀浆蛋白浓度为11.00 gprot/L计算结果为：

$$\text{LPS 酶活 (U/gprot)} = \frac{1.084}{14150 \times 0.6} \div 11.00 \times 5 \div 20 \times 10_6 = 2.90\ \text{U/gprot}$$

按照说明书操作，测定大鼠肝脏组织(10%匀浆蛋白浓度为11.00 gprot/L，稀释5倍，加样量10 μL)、大鼠肾组织(10%匀浆蛋白浓度为9.57 gprot/L，稀释5倍，加样量10 μL)、大鼠肺组织(10%匀浆蛋白浓度为6.03 gprot/L，稀释5倍，加样量10 μL)和人血浆(稀释6倍，加样量10 μL)中LPS活力(如下图)：



## 附录3 问题答疑

| 问题 | 可能原因 | 建议解决方案 |
| --- | --- | --- |
| 复孔差较大 | 取用试剂三工作液前没有混匀 | 吸取试剂三工作液前需进行混匀操作 |
| 测试结果偏低 | 样本稀释倍数较大 | 降低样本稀释倍数 |
| | 试剂三工作液超过 1 h 使用 | 严格按照说明书进行试剂准备 |

**声明**

1. 试剂盒仅供研究使用，如将其用于临床诊断或任何其他用途，我公司将不对因此产生的问题负责，亦不承担任何法律责任。
2. 实验前请仔细阅读说明书并调整好仪器，严格按照说明书进行实验。
3. 实验中请穿着实验服并戴乳胶手套做好防护工作。
4. 试剂盒检测范围不等同于样本中待测物的浓度范围。如果样品中待测物浓度过高或过低，请对样本做适当的稀释或浓缩。
5. 若所检样本不在说明书所列样本类型之中，建议先做预实验验证其检测有效性。
6. 最终的实验结果与试剂的有效性、实验者的相关操作以及实验环境等因素密切相关。本公司只对试剂盒本身负责，不对因使用试剂盒所造成的样本消耗负责，使用前请充分考虑样本可能的使用量，预留充足的样本。

# 附录4 客户发表文献

1. Ouyang B, Zhong Q, Ouyang P, et al. Graphene quantum dots enhance the biological nitrogen fixation by up-regulation of cellular metabolism and electron transport[J]. Chemical Engineering Journal, 2024, 487: 150694.

2. Wang X, Wang Y, Huo H, et al. Transient receptor vanilloid subtype 4-mediated Ca2+ influx promotes glomerular endothelial inflammation in sepsis-associated acute kidney injury[J]. Laboratory Investigation, 2023, 103(6): 100126.

3. Zhao X, Cai P, Xiong S, et al. Lacticaseibacillus rhamnosus NCUH061012 alleviates hyperuricemia via modulating gut microbiota and intestinal metabolites in mice[J]. Food Bioscience, 2024, 58: 103699.

4. Genc E, Kaya D, Genc M A, et al. Effect of biofloc technology in Farfantepenaeus aztecus culture: The optimization of dietary protein level on growth performance, digestive enzyme activity, non-specific immune response, and intestinal microbiota[J]. Journal of the World Aquaculture Society, 2024, 55(2): e13041.

5. Genc E, Kaya D, Genc M A, et al. Effect of dietary mannan oligosaccharide inclusion on production parameters of Farfantepenaeus aztecus cultured in a biofloc system[J]. Journal of the World Aquaculture Society, 2024, 55(5): e13086.

6. Fu S, Qian K, Tu X, et al. Comparative analysis of intestinal structure, enzyme activity, intestinal microbiota and gene expression in different segments of pufferfish (Takifugu Obscurus)[J]. Comparative Biochemistry and Physiology Part D: Genomics and Proteomics, 2024, 52: 101341.