

脂肪酶(LPS)试剂盒

- 【产品简介】**
- ◆脂肪酶(EC3.1.1.3)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。

【货 号】 TMC014

【规 格】 96T

【包装清单】

试剂名称	规格	保存条件	
提取液	液体100mL×1瓶	4℃	
试剂一	A液体: uL×4支 B液体: 8mL×1瓶	-20℃	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℃	
标准品	粉体 mg×1支	4℃	若重新做标曲,则用到该标曲

【保存条件】 4℃保存，有效期一年。

【操作步骤】 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 (uL)	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， $\Delta A = A2 - A1$ 。	

3、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。

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

$$= 307.7 \times (\Delta A + 0.0003) \div \text{Cpr}$$

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。

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

$$= 0.615 \times (\Delta A + 0.0003)$$

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；

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

- 【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。
-