

脂肪酶（LPS）测定试剂盒说明书

（货号：A054-1-1 比色法 50管/48样）

免责声明：测试前请仔细阅读说明书，预试后再进行批量实验，否则由此导致的后果用户自行承担！

一、测定原理：

甘油三酯和水制成的乳胶，因其胶束对入射光的吸收及散射而具有乳浊性状。胶束中的甘油三酯在脂肪酶（Lipase；LPS）的作用下发生水解，使胶束分裂，散射光或浊度因而减低，减低的速率与脂肪酶活力有关。

二、试剂组成与配制：（试剂盒有效期6个月）

试剂一：底物缓冲液，60mL×2瓶，4℃保存，临用前37℃预温后使用；

试剂二：Tris缓冲液，10mL×1瓶，4℃保存；

试剂三：10mL×1瓶，4℃密封保存。

（所有试剂在测试前半小时均需放置至室温）

三、所需仪器及试剂：（自备）

可见光分光光度计及1cm光径比色皿，涡旋混匀器，37℃水浴锅，生理盐水，蛋白测定试剂（组织样本用，本公司有售）。

四、样本前处理：

血清（浆）：直接取样检测，若有固体存在，可4000转/分，离心5分钟，取上清检测；

组织样本：准确称取待测组织，按重量（g）：体积（mL）=1:4的比例加入4倍体积的生理盐水，冰水浴条件机械匀浆，4000转/分，离心10分钟，取上清液（20%匀浆上清）待测（该上清需测其蛋白浓度，用于计算）。

五、操作步骤：

1、操作表：（各管单独操作）

	标准管	血清（浆）测定管	组织匀浆测定管
生理盐水（μL）	50		
血清（浆）（μL）		50	
组织匀浆（μL）			25
试剂三（μL）			25
试剂一（μL）	2000	2000	2000

涡旋混匀，迅速倒入比色皿中，在分光光度计420nm处（1cm光径）比色，30秒时读取吸光度值A1，37℃保温，10分30秒时再次读取吸光度值A2，求 $\Delta A_{测定}=A1-A2$ 。（标准管只需读A1值即可）

2、详细操作过程：

- ①、将分光光度计于420nm处，1cm光径玻璃比色皿，用试剂二调零；
- ②、将试剂一37℃预温5分钟以上；
- ③、往相应编号的测定管中加入50μL血清（浆）（组织样本加匀浆25μL和试剂三25μL），吸取已预温好的试剂一2mL加入试管中，快速混匀并计时；
- ④、迅速倒入1cm光径比色皿中，在分光光度计420nm处比色，30秒时读取吸光度值A1；
- ⑤、将此反应液倒入原试管中置37℃水浴锅中反应，10分钟时从水浴锅中取出，倒入比色皿中，再迅速放入分光光度计，10分30秒时读取吸光度值A2；
- ⑥、标准管先加入50μL生理盐水，再加入2mL试剂一，涡旋混匀，在分光光度计420nm处比色，记为As；
- ⑦、求出测定管2次吸光度差值（ $\Delta A=A1-A2$ ）。

3、注意点：胰腺中脂肪酶含量很高，测定之前需做预实验以确定最佳取样浓度（ $\Delta A \leq 0.4$ ）；比色皿每次比色前要用温蒸馏水洗涤干净后再进行下次比色；约有3~5%

的分析标本与底物作用后吸光度反而增加，一般是反复冻溶的标本及IgM增高的样本（如类风湿因子）。

六、计算公式：

1、标准管吸光度值As，相当于标准管（454μmol/L）的浓度的吸光度值。

2、血清（浆）脂肪酶单位定义：在37℃条件下，每升血清（浆）在本反应体系中与底物反应1分钟，每消耗1μmol底物为一个酶活力单位。

$$\text{血清（浆）LPS活力（U/L）} = \frac{A_1 - A_2}{A_s} \times C_{\text{标准}} \times \frac{V_{\text{反总}}}{V_{\text{样}}} \div T \times N$$

3、组织脂肪酶单位定义：在37℃条件下，每克组织蛋白在本反应体系中与底物反应1分钟，每消耗1μmol底物为一个酶活力单位。

$$\text{组织LPS活力（U/g蛋白）} = \frac{A_1 - A_2}{A_s} \times C_{\text{标准}} \times \frac{V_{\text{反总}}}{V_{\text{样}}} \div T \times N \div Cpr$$

以上公式中：

C_{标准}：标准浓度，454μmol/L；

V_{反总}：反应液总体积，2.05mL；

V_样：样本取样量，血清（浆）0.05mL，组织匀浆0.025mL；

T：反应时间，10分钟；

N：样本测试前稀释倍数；

Cpr：组织匀浆蛋白浓度，g/L。

注：组织样本测试前稀释倍数不包含组织前处理过程。

七、检测范围：

$$5.0-2000\text{U/L。} \left(\text{通过代入} \frac{\Delta A_{\text{测定}}}{A_s} \times C_{\text{标准}} \times \frac{V_{\text{反总}}}{V_{\text{样}}} \div T \right)$$

计算判定）