

## 脂肪酶（LPS）测定试剂盒

（货号：BC055 比色法 50 管/48 样）

### 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、试剂组成及配制：（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：**生理盐水，10mL×1 瓶，短期用 4℃保存，长期用需放 -20℃保存；

**试剂四：**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：

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

### 四、血清（浆）脂肪酶的测定：

#### 1、操作过程：

- ①、将分光光度计于 420nm 处，1cm 光径玻璃比色皿，用 Tris 缓冲液调零；
- ②、将底物缓冲液 37℃预温 5 分钟以上；
- ③、往相应编号的试管中加入 50μL 血清（浆），吸取已预温好的底物缓冲液 2mL 加入试管中，快速混匀并计时；
- ④、迅速倒入比色皿中，在分光光度计 420nm 处比色，30 秒时读取吸光度值 A<sub>1</sub>；
- ⑤、将此比色液倒入原试管中置 37℃准确水浴 10 分钟，再迅速倒入比色皿中，10 分 30 秒时读取吸光度值 A<sub>2</sub>；
- ⑥、求出 2 次吸光度差值（ΔA=A<sub>1</sub>-A<sub>2</sub>）。

#### 2、计算公式：

**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。

**标准管吸光度的计算：**取底物缓冲液 2mL 加生理盐水 50μL，420nm 处比色，读取吸光度值 A<sub>s</sub>值，此 A<sub>s</sub>值相当于标准管（454μmol/L）的浓度的吸光度值。

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

**C<sub>标准</sub>**:标准浓度,454μmol/L;

**V<sub>反总</sub>**:反应液总体积,2.05mL;

**V<sub>样</sub>**:样本取样量,0.05mL;

**T**:反应时间,10 分钟。

#### 3、注意点：

- ①、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。
- ②、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）。

#### 4、举例：

地址：武汉市东湖新技术开发区高科园二路盛齐安生物产业园 4 号楼

取猪血清 0.05mL 按操作进行测定, 测得  $A_s$  为 0.729,  $A_1$  为 0.916,  $A_2$  为 0.891, 则该猪血清 LPS 活力为:

$$\begin{aligned}\text{猪血清 LPS 活力 (U/L)} &= \frac{0.916 - 0.891}{0.729} \times 454 \times \frac{2.05}{0.05} \div 10 \\ &= 63.834 \text{U/L}\end{aligned}$$

## 五、组织脂肪酶的测定:

### 1、操作过程:

- ①、将分光光度计于 420nm 处, 1cm 光径玻璃比色皿, 用 Tris 缓冲液调零;
- ②、将底物缓冲液 37°C 预温 5 分钟以上;
- ③、往相应编号的试管中加入 25 $\mu$ L **20%的组织匀浆上清液**, 再加入试剂四 25 $\mu$ L, 吸取已预温好的底物缓冲液 2mL 冲入试管中, 快速混匀, 并计时;
- ④、迅速倒入比色皿中, 在分光光度计 420nm 处比浊, 30 秒时读取吸光度值  $A_1$ ;
- ⑤、将此比色液倒入原试管中置 37°C 准确水浴 10 分钟, 再迅速倒入比色皿中, 10 分 30 秒时读取吸光度值  $A_2$ ;
- ⑥、求出 2 次吸光度差值 ( $\Delta A = A_1 - A_2$ )。

### 2、计算公式:

**组织脂肪酶单位定义:** 在 37°C 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 1 $\mu$ mol 底物为一个酶活力单位。

**标准管吸光度的计算:** 取底物缓冲液 2mL 加生理盐水 50 $\mu$ L, 420nm 处比浊, 读取吸光度值  $A_s$  值, 此  $A_s$  值相当于标准管 (454 $\mu$ mol/L) 的浓度的吸光度值。

$$\text{组织 LPS 活力 (U/gprot)} = \frac{A_1 - A_2}{A_s} \times C_{\text{标准}} \times \frac{V_{\text{反应总}}}{V_{\text{样}}} \div T \div \text{Cpr}$$

$C_{\text{标准}}$ : 标准浓度, 454 $\mu$ mol/L;

$V_{\text{反应总}}$ : 反应液总体积, 2.05mL;

$V_{\text{样}}$ : 样本取样量, 0.025mL;

$T$ : 反应时间, 10 分钟。

$\text{Cpr}$ : 组织匀浆蛋白浓度, gprot/L (prot 指蛋白)。

### 3、注意点:

- ①、**20%组织匀浆的制备:** 准确称取组织湿重, 按重量 (g) : 体积 (mL) = 1 : 4 的比例, 加入 4 倍体积生理盐水, 冰水浴条件下机械匀浆, 2500 转 / 分, 离心 10 分钟, 取上清液进行测定。
- ②、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 ( $\Delta A \leq 0.4$ )。
- ③、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。
- ④、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)。

### 4、举例:

取 20% 肝胰腺匀浆 0.025mL 按操作进行测定, 测得  $A_s$  为 0.716,  $A_1$  为 1.068,  $A_2$  为 0.989, 同时测得该 20% 肝胰腺匀浆液蛋白浓度为 15.346gprot/L, 则该肝胰腺组织 LPS 活力为:

$$\begin{aligned}\text{组织 LPS 活力 (U/gprot)} &= \frac{1.068 - 0.989}{0.716} \times 454 \times \frac{2.05}{0.025} \div 10 \div 15.346 \\ &= 26.732 \text{U/gprot}\end{aligned}$$



ELK Biotechnology

Tel: +86-027-59760950 Website: [www.elkbiotech.cn](http://www.elkbiotech.cn)

六：检测范围：

5.0-2000U/L