

脂肪酶（LPS）测试盒

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：

试剂一：底物缓冲液，60ml×2 瓶，4℃冷藏保存 6 个月，临用前 37℃预温后使用；

试剂二：Tris 缓冲液，10ml×1 瓶，4℃冷藏保存 6 个月；

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 6 个月。

所有试剂在测试前均需放置至室温。

三、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 50 μl 新鲜血清（浆），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 A1；
- 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 A2；
- ⑥、求出 2 次吸光度差值（ $\Delta A=A1-A2$ ）。

2、酶活力计算：

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 1 μmol 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 μl，420nm 处比浊，读取吸光度值 AS 值，此 AS 值相当于标准管（454 μmol/L）的浓度的吸光度值。

$$\text{血浆 LPS 活力} \quad \text{标准品浓度} \quad \text{反应液总体积 (2.05)} \quad \text{反应时间}$$

$$\text{()} \quad \text{---} \quad \text{()} \quad \text{---} \quad \text{()}$$

$$\text{U/L} \quad = \frac{A_1 - A_2}{\text{取样量 (0.05) ml} \div 10 \text{ 分钟}} \times 454 \mu\text{mol/L} \times \text{---}$$

四、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℃ 预温 5 分钟以上；
- ③、往相应编号的试管中加入 25 μl 20% 的组织匀浆上清液，再加入试剂四 25 μl，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 A1；
- 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 A2；
- ⑥、求出 2 次吸光度差值 (ΔA=A1-A2)。

2、酶活力计算：

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 1 μmol 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 μl, 420nm 处比浊, 读取吸光度值 AS 值, 此 AS 值相当于标准管 (454 μmol/L) 的浓度的吸光度值。

$$\text{组织 LPS 活力} = \frac{A_1 - A_2 \times \text{标准管的浓度} \times \text{反应液总体积} (2.05\text{ml})}{\text{反应时间}} \div \text{待测样本蛋白浓度}$$

$$(U / \text{gprot}) \quad \frac{A_S}{(454 \mu\text{mol} / L)} \quad \text{取样量} (0.025\text{ml}) \quad (10 \text{ 分钟}) \quad (\text{gprot} / L)$$