

脂肪酶活性检测试剂盒说明书

产品货号	产品名称	包装规格	测定方法
AMHA7-M48	脂肪酶活性检测试剂盒	48T	微量法
AMHA7-M96		96T	微量法

一、测定意义：

脂肪酶 (lipase) 又称三酰甘油水解酶，是能水解长链脂肪酸三酰甘油的一类酶的总称。血清脂肪酶活性测定可用于胰腺疾病诊断，特别是在急性胰腺炎。急性胰腺炎和非急性胰腺炎患者与正常人血清脂肪酶水平差异较大，在急性胰腺炎的诊断上具有更好的敏感性和特异性。

二、测定原理：

脂肪酶水解底物产生对硝基苯酚 (pNP)，其在碱性条件下显黄色，在 410nm 下测定吸光值，可计算出脂肪酶活性。

三、试剂组成：

试剂名称	试剂装量 (48T)	试剂装量 (96T)	保存条件
提取液	液体 60mL×1 瓶	液体 110mL×1 瓶	2~8℃ 保存
试剂一	液体 2.5mL×1 瓶	液体 5mL×1 瓶	2~8℃ 保存
试剂二	液体 25mL×1 瓶	液体 50mL×1 瓶	2~8℃ 保存
工作液配制：临用前将试剂一：试剂二按 1：9 比例混匀，备用			
试剂三	液体 25mL×1 瓶	液体 50mL×1 瓶	2~8℃ 保存
标准品 (1mg/mL)	液体 1mL×1 支	液体 1mL×1 支	2~8℃ 保存

四、操作步骤：

样本前处理

- 1、组织：按照组织质量 (g) :提取液(mL)为1:10 的比例（建议称取 0.1 g 组织，加入 1 mL 提取液）进行冰浴匀浆。5000 rpm，4℃ 离心 10 min，取上清置冰上待测。
- 2、细菌、细胞：按照细胞数量 10^4 个：提取液体积 (mL) 500~1000:1 的比例（建议 500 万细胞加入 1 mL 提取液），冰浴超声波破碎细胞

（功率 300w，超声 3s，间隔 7s，总时间 3 min），5000 rpm，4℃

离心 10min，取上清置冰上待测。

3、血清（浆）等液体样本：直接测定。若有浑浊请离心后取上清待测。

测定步骤

- 1、酶标仪预热 30min 以上，调节波长至 410nm，蒸馏水调零。
- 2、将 1mg/mL 标准液用蒸馏水稀释为 100、80、60、40、20、10μg/mL 的标准溶液备用。
- 3、取 30μL 样本于离心管中沸水浴 5min 备用，将配制好的工作液于 37℃ 水浴保温 5min 备用。
- 4、操作表（将试剂依次加入离心管中）

试剂名称	对照管	测定管	标准管	空白管
标准溶液 (μL)	-	-	30	-
样本 (μL)	-	30	-	-
蒸馏水 (μL)	-	-	-	30
煮沸样本 (μL)	30	-	-	-
工作液 (μL)	150	150	150	150
充分混匀于 37℃ 水浴 15min				
试剂三 (μL)	150	150	150	150
充分混匀，4000r/min,常温离心 5min，取 200μL 于 96 孔板中，波长 410nm 处测吸光值 A，计算 $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ ， $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}$ 。每一个测定管需设一个对照管。				

五、脂肪酶活性计算：

- 1、标准曲线绘制：以吸光度值为横坐标，标准品浓度为纵坐标，绘制标准曲线。根据标准曲线，将 $\Delta A_{\text{测定}}$ 带入公式计算出样本浓度 (y，μg/mL)；
- 2、血清样本脂肪酶计算

单位定义：每毫升血清每分钟催化产生 1 μ g 对硝基酚的量为一个活力单位。

计算公式：脂肪酶 (U/mL) = $y \div T = 0.067 \times y$

3、组织、细胞脂肪酶计算

(1)按样本蛋白浓度计算

单位定义：每毫克组织蛋白每分钟催化产生 1 μ g 对硝基酚的量为一个活力单位。

计算公式：脂肪酶 (U/mg prot) = $y \div Cpr \div T = 0.067 \times y \div Cpr$

(2)按样本鲜重计算

单位定义：每克组织每分钟催化产生 1 μ g 对硝基酚的量为一个活力单位。

计算公式：脂肪酶 (U/g) = $y \div (W \div V_{\text{样总}}) \div T = 0.067 \times y \div W$

(3)按照细菌或细胞数量计算

单位定义：每 1 百万个细菌或细胞每分钟催化产生 1 μ g 对硝基酚的量为一个活力单位。

计算公式：脂肪酶 (U/ 10^6 cell) = $y \div (5 \div V_{\text{样总}}) \div T = 0.013 \times y$

$V_{\text{样}}$ ：加入样本体积，0.02mL； $V_{\text{样总}}$ ：加入提取液体积，1 mL；

T：反应时间，15min；Cpr：样本蛋白质浓度，mg/mL；

5：细胞/细菌数，500 万；W：重量，g。

六、注意事项：

- 1、比色时，溶液呈现淡黄色，在 2h 内保持稳定。
- 2、不同样本的脂肪酶差异较大，实验之前建议选择 2-3 个预期差异大的样本做预实验。根据样本活性可以适当增加或者减少称取样本量，也可调整稀释倍数。计算时调整相应的系数即可。

【厂家信息】

生产企业：南京陌凡生物科技有限公司

地址：南京市栖霞区红枫科技园 A6 栋 2 层

【售后微信】



【说明书核准及修改日期】

核准日期：2025 年 4 月 7 日

修改日期：2025 年 4 月 7 日