

## 脂蛋白酯酶(LPL)检测试剂盒

### Lipoprotein lipase Assay Kit

分光光度法

货号: AK236

规格: 50T/48S

产品组成及保存条件:

编号	规格	储存条件
AK236-A	60mL×1 瓶	4℃保存;
AK236-B	10mL×1 瓶	4℃避光保存;
AK236-C	25ml×1 瓶	4℃保存;

※ 正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定。

简介:

意义: 脂蛋白酯酶 (Lipoprotein lipase, LPL) 是脂肪细胞、心肌细胞、骨骼肌细胞、乳腺细胞及巨噬细胞等实质细胞合成的一种酶, 可催化甘油三酯水解为脂肪酸和单酸甘油酯, 以供组织氧化供能和贮存, 并在不同的组织表现出不同的生理意义。

原理: 脂蛋白酯酶水解 4-硝基苯棕榈酸酯产生 4-硝基苯酚, 在 400nm 有特征吸收峰。

自备用品:

天平、冷冻离心机、研钵、水浴锅、可见分光光度计、1 mL 玻璃比色皿。

粗酶提取:

1. 组织: 按照质量 (g): AK236-A 体积 (mL) 为 1: 5~10 的比例 (建议称取约 0.1g, 加入 1mL AK236-A) 加入 AK236-A, 冰浴匀浆后于 4℃, 10000g 离心 10min, 取上清待测。
2. 细胞: 按照细胞数量 (10<sup>4</sup> 个): AK236-A 体积 (mL) 为 500~1000: 1 的比例 (建议 500 万细胞加入 1mL AK236-A) 加入 AK236-A, 冰浴超声波破碎细胞 (功率 300w, 超声 3 秒, 间隔 7 秒, 总时间 3min); 然后于 4℃, 10000g 离心 10min, 取上清待测。
3. 血清: 直接测定。

测定步骤:

1. 分光光度计/酶标仪预热 30min, 调节波长到 400 nm, 蒸馏水调零。
2. 在 EP 管中依次加入下列试剂

试剂名称	对照管(μL)	测定管 (μL)
上清液	100	100
AK236-A	400	
AK236-B		400
混匀, 45℃水浴10min		
AK236-C	500	500
充分混匀, 25℃静置 2min, 于 1mL 玻璃比色皿, 蒸馏水调零, 测定 400nm 处吸光值, 记为 A 对照管和 A 测定管, $\Delta A = A \text{ 测定管} - A \text{ 对照管}$		

注意: 对照管只需测定一次。

LPL 活性计算公式:

标准曲线:  $y = 0.0581x - 0.0169$ ,  $R^2 = 0.9982$

(1) 按照蛋白浓度计算

酶活性定义：在 45℃，pH7.5 条件下，每毫克蛋白每分钟水解产生 1 μmol 4-硝基苯酚为一个酶活力单位。

$$\text{LPL 活性 } (\mu\text{mol /min/mg prot}) = (\Delta A + 0.0169) \div 0.0581 \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \times \text{Cpr}) \div T$$

$$= 17.21 \times (\Delta A + 0.0169) \div \text{Cpr}$$

※ 蛋白定量检测建议使用本公司：BCA Protein Assay Kit (C05-02001)

(2) 按照样本质量计算

酶活性定义：在 45℃，pH7.5 条件下，每克组织每分钟水解产生 1 μmol 4-硝基苯酚为一个酶活力单位。

$$\text{LPL 活性 } (\mu\text{mol /min/g}) = (\Delta A + 0.0169) \div 0.0581 \times V_{\text{反总}} \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T$$

$$= 17.21 \times (\Delta A + 0.0169) \div W$$

(3) 按照细胞数量计算

酶活性定义：在 45℃，pH7.5 条件下，每 10<sup>4</sup> 个细胞每分钟水解产生 1 μmol 4-硝基苯酚为一个酶活力单位。

$$\text{LPL 活性 } (\mu\text{mol /min}/10^4 \text{ cell}) = (\Delta A + 0.0169) \div 0.0581 \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \times \text{细胞数量} \div V_{\text{样总}}) \div T$$

$$= 17.21 \times (\Delta A + 0.0169) \div \text{细胞数量}$$

(4) 按照液体体积计算

酶活性定义：在 45℃，pH7.5 条件下，每毫升血清每分钟水解产生 1 μmol 4-硝基苯酚为一个酶活力单位。

$$\text{LPL 活性 } (\mu\text{mol /min/mL}) = (\Delta A + 0.0169) \div 0.0581 \times V_{\text{反总}} \div V_{\text{样}} \div T = 17.21 \times (\Delta A + 0.0169)$$

注：V 反总：反应总体积，1mL；V 样：反应体系中加入样本体积，0.1mL；W：样本质量，g；V 样总：加入提取液体积，1mL；T：反应时间，10min

**注意事项：**

1. AK236-C 加入混匀后静置两分钟立即测定，否则影响吸光值。
2. 吸光值过高或者测定结果不稳定，则将酶液进行适当的稀释，并在计算公式中乘以稀释倍数。