

## 脂蛋白酯酶(LPL)活性检测试剂盒

### Lipoprotein lipase Assay Kit

微量法

货号: AK237

规格: 100T/48S

产品组成及保存条件:

编号	规格	储存条件
AK237-A	105mL×1 瓶	4℃保存;
AK237-B	4mL×1 瓶	4℃避光保存;
AK237-C	10ml×1 瓶	4℃保存;
AK237-标准品 (0.5 μmol/mL)	0.1ml×1 支	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/酶标仪、微量玻璃比色皿/96 孔板、冰和蒸馏水。

粗酶提取:

1. 组织: 按照质量 (g): AK237-A 体积 (mL) 为 1: 5~10 的比例 (建议称取约 0.1g, 加入 1mL AK237-A) 加入 AK237-A, 冰浴匀浆后于 4℃, 10000g 离心 10min, 取上清置冰上待测。
2. 细胞: 按照细胞数量 (10<sup>4</sup> 个): AK237-A 体积 (mL) 为 500~1000: 1 的比例 (建议 500 万细胞加入 1mL AK237-A) 加入 AK237-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. 按下表依次加入下列试剂:

试剂名称	对照管(μL)	测定管 (μL)	标准管(μL)	空白管(μL)
粗酶液	20	20		
标准液			20	
蒸馏水				20
AK237-A	80		80	80
AK237-B		80		
混匀, 45℃水浴10min				
AK237-C	100	100	100	100

充分混匀放置 2min 后, 于微量玻璃比色皿/96 孔板中测定 400nm 处吸光值, 记为 A 对照管、A 测定管、A 空白管、A 标准管,  $\Delta A = A \text{ 测定管} - A \text{ 对照管}$ ,  $\Delta A \text{ 标准} = A \text{ 标准管} - A \text{ 空白管}$  (标准管和空白管只需测 1-2 次)。

### LPL 活性计算公式:

#### 1、血清(浆) LPL 活力计算:

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

$$\text{LPL (U/mL)} = \Delta A \div (\Delta A \text{ 标准} \div C \text{ 标准}) \div T \times 1000 = 50 \times \Delta A \div \Delta A \text{ 标准}$$

#### 2、组织、细菌或细胞中 LPL 活力计算:

##### (1) 按样本质量计算:

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

$$\text{LPL (U/g 质量)} = \Delta A \div (\Delta A \text{ 标准} \div C \text{ 标准}) \times V \text{ 提取} \div W \div T \times 1000 = 50 \times \Delta A \div \Delta A \text{ 标准} \div W$$

##### (2) 按样本蛋白浓度计算:

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

$$\text{LPL (U/mg prot)} = \Delta A \div (\Delta A \text{ 标准} \div C \text{ 标准}) \times V \text{ 提取} \div (V \text{ 提取} \times Cpr) \div T \times 1000 = 50 \times \Delta A \div \Delta A \text{ 标准} \div Cpr$$

##### (3) 按细菌或细胞数量计算:

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

$$\text{LPL (U/10}^4 \text{ cell)} = \Delta A \div (\Delta A \text{ 标准} \div C \text{ 标准}) \times V \text{ 提取} \div 500 \div T \times 1000 = 0.1 \times \Delta A \div \Delta A \text{ 标准}$$

C 标准: 标准溶液浓度, 0.5μmol/mL; V 提取: 加入 AK237-A 体积, 1mL; T: 反应时间, 10min;

Cpr: 样本蛋白质浓度, mg/mL; W: 样本质量, g; 500: 细菌或细胞总数, 500 万; 1000: 单位换算系数, 1μmol=1000nmol。

### 注意事项:

1. AK237-C 加入混匀后静置两分钟立即测定, 否则影响吸光值。
2. 测定管加入 AK237-B 后变浑浊为正常现象。
3. 吸光值过高或者测定结果不稳定, 则将粗酶液进行适当的稀释, 并在计算公式中乘以稀释倍数。