

脂蛋白酯酶(LPL)活性检测试剂盒

Lipoprotein lipase Assay Kit

分光光度法

货号: AK236

规格: 50T/24S

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	30ml×1 瓶	4℃保存
AK236-标准品 (0.5μmol/mL)	1ml×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、1ml 玻璃比色皿、冰和蒸馏水。

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, 取上清置冰上待测。
2. 细胞: 按照细胞数量 (10⁴ 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. 分光光度计预热 30min, 调节波长到 400 nm, 蒸馏水调零。
2. 在 1.5mL 离心管中依次加入下列试剂:

试剂名称	对照管(μL)	测定管 (μL)	标准管(μL)	空白管(μL)
粗酶液	100	100		
标准液			100	
蒸馏水				100
AK236-A	400		400	400
AK236-B		400		
混匀, 45℃水浴10min				
AK236-C	500	500	500	500

充分混匀放置 2min 后, 分别取对照管和测定管的上清、标准管和空白管于 1ml 玻璃比色皿中测定 400nm 处吸光值, 记为 A 对照管、A 测定管、A 空白管、A 标准管, $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}}$, $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准管}} - A_{\text{空白管}}$ (空白管和标准管各需做 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℃，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℃，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℃，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℃，pH7.5 条件下，每 10⁴ 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 AK236-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. AK236-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 AK236-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。