

肝脂酶(HL)检测试剂盒说明书

Hepatic Lipase Assay Kit

微量法

货号: AK073

规格: 100T/96S

产品组成及保存条件:

编号	规格	储存条件
AK073-A	30ml×1 瓶	4℃保存;
AK073-B	30ml×1 瓶	4℃保存;
AK073-C	自备	试验前 1 天, 取 25ml 玻璃瓶, 加入 12ml 正庚烷, 0.5ml 无水甲醇, 12.5ml 氯仿, 盖紧后混匀, 室温保存。
AK073-D	5ml×1 瓶	室温保存
AK073-E	粉剂×1 支	4℃避光保存;
标准品	粉剂×1 支	室温避光保存, 临用前把试剂转移到 10ml 的玻璃瓶, 加入 7.8ml 氯仿充分溶解, 即为 500umol/L 的棕榈酸标准液。

简介:

意义: 肝脂酶 (Hepatic Lipase, HL) 仅存于肝内皮细胞表面, 在中密度脂蛋白和高密度脂蛋白代谢中起重要作用。

原理: HL 能水解乳剂中的 TG。生成游离脂肪酸, 进一步通过铜试剂法测定体系中游离脂肪酸的生成。

自备用品:

可见分光光度计/微量法、微量石英比色皿/96 孔板、水浴锅、可调式移液枪、双蒸水。

粗酶液提取:

1. 血液中 HL 活性测定: 按动物体重, 150U/kg 肝素钠溶液静脉注射, 20 分钟后取血液, 即下表中的粗酶液。
2. 组织中 HL 活性测定: 组织用生理盐水冲洗干净后, 用吸水纸吸取表面水分, 称取 0.1g, 加入 1ml 生理盐水, 冰浴匀浆, 8000rpm, 4℃离心 10 分钟, 取上清液, 即粗酶液, 待测。

HL 测定操作:

1. 分光光度计预热 30 分钟, 调节波长 550nm, 蒸馏水调零。
2. 检测样本制备:

试剂名称	检测样本管 (ul)
粗酶液	50
AK073-A	500
AK073-B	500
盖紧后充分振荡混匀, 37℃水浴准确保温 60 分钟, 即为检测样本, 进行下一步实验。	

3. 取带盖玻璃试管中按照下表操作

试剂名称	空白管 (ul)	标准管 (ul)	测定管 (ul)
双蒸水	2		
标准液		2	
检测样本			2

AK073-C	100	100	100
AK073-D	40	40	40
AK073-E	40	40	40
	盖紧后充分振荡混匀，倒入 1ml 玻璃比色皿，静置 15 分钟，于 550nm 测光吸收，		
	记为 A 空白管。	记为 A 标准管。	记为 A 肝酯酶

HL 活力计算：

1. 血液中 HL 活力计算

活性单位定义：37℃中每毫升血清（浆）每分钟在反应体系中所产生的 1u molFFA。

肝酯酶 (HL) 活性 (U/ml) = $[C \text{ 标准液} \div (A \text{ 肝酯酶-A 空白管}) \div (A \text{ 标准管-A 空白管})] \times V \text{ 反总} \div (V \text{ 样} \div V \text{ 样总}) \div T = 0.7 \times (A \text{ 肝酯酶-A 空白管}) \div (A \text{ 标准管-A 空白管})$

注： C 标准液：0.5u mol/mL；V 反总：催化反应体系总体积，1.05ml；V 样：粗酶液体积，50ul；V 样总：粗酶液总体积，1000ul；T：反应时间，15 分钟。

2. 组织中 HL 活性计算

活性单位定义：37℃中每毫克蛋白每分钟内催化产生 1u mol FFA。

肝酯酶 (HL) 活性 (U/mg) = $0.7 \times (A \text{ 肝酯酶-A 空白管}) \div (A \text{ 标准管-A 空白管}) \div \text{Cpr}$

注： Cpr: 粗酶液蛋白质浓度，mg/ml。