



肝酯酶活性检测试剂盒 HL Assay Kit

微量法

产品编号: AK488M

产品规格: 100T/48S

产品组成及保存条件:

编号	规格	储存条件
AK488-A	80mL×1 瓶	4℃保存
AK488-B	1.5mL×1 瓶	4℃避光保存
AK488-C	10mL×1 瓶	4℃保存
AK488-D	2mL×1 瓶	4℃避光保存
AK488-标准品	粉剂×1 支	4℃保存; 临用前加入 6.94 mL 丙酮, 配成 10 umol/mL 标准溶液, 充分溶解待用, 用不完的-20℃保存4周。

※ 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: 肝酯酶 (Hepatic lipase, HL) 是脂肪分解酶, 在肝实质细胞中合成, 存在于肝脏窦周间隙内皮细胞表面和窦周间隙腔面的肝细胞微绒毛表面, 可促进脂蛋白中的胆固醇向类固醇激素转化, 血浆中的 HL 活性增高时, 血浆中小颗粒可导致 LDL 水平升高, 加速动脉粥样硬化的发生。

原理: 肝酯酶水解 α -乙酸萘酯产生 α -萘酚, 可与固蓝 B 盐形成紫红色偶氮化合物, 在 595nm 有特征吸收峰, 颜色深浅在一定范围内与肝酯酶活性成正相关。

自备用品:

可见分光光度计/酶标仪、微量玻璃比色皿/96 孔板、天平、冷冻离心机、研钵、水浴锅、丙酮、冰和蒸馏水。

样品处理

- 组织: 按照质量 (g) : AK488-A 体积 (mL) 为 1 : 5~10 的比例 (建议称取约 0.1g, 加入 1mL AK488-A) 加入 AK488-A, 冰浴匀浆后于 4℃, 10000g 离心 10min, 取上清待测。
- 细胞: 按照细胞数量 (10^4 个) : AK488-A 体积 (mL) 为 500~1000 : 1 的比例 (建议 500 万细胞加入 1mL AK488-A) 加入 AK488-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。
- 血清: 直接测定。

测定步骤:

- 分光光度计或酶标仪预热 30 min, 调节波长到 595nm, 蒸馏水调零。
- 将 10 umol/mL 的标准溶液用试剂 A 稀释为 5、2.5、1.25、0.625、0.3125、0.15625、0.078 umol/mL 的标准溶液备用。
- 样本测定 (在 EP 管中加入)

试剂名称	对照管 (ul)	测定管 (ul)	标准管 (ul)	空白管 (ul)
样品	20	20		
标准品			20	
AK488-A	90	80	80	100
AK488-B		10	10	10
混匀, 30℃水浴 10min				
AK488-C	80	80	80	80

AK488-D	10	10	10	10
充分混匀，30℃静置 5min，测定 595 nm 处吸光值，分别记为 A 对照管、A 测定管、A 标准管和 A 空白管。计算 $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}}$ ， $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准管}} - A_{\text{空白管}}$ 。 注：每个测定管需设一个对照管，空白管和标准管只需做 1-2 次。				

HL 酶活计算公式：

1. 标准曲线的绘制：

根据标准管的浓度 (x, $\mu\text{mol/mL}$) 和吸光度 $\Delta A_{\text{标准}}$ (y, $\Delta A_{\text{标准}}$)，建立标准曲线。根据标准曲线，将 ΔA (y, ΔA) 带入公式计算样本浓度 (x, $\mu\text{mol/mL}$)。

2. HL 酶活的计算：

(1) 按有蛋白浓度计算

酶活定义：每毫克蛋白每分钟水解 α -乙酸萘酯产生 1 μmol 的 α -萘酚为一个酶活力单位。

$$\text{HL 活性}(\text{U/mg prot}) = x \times V_{\text{样}} \div (V_{\text{样}} \times \text{Cpr}) \div T = 0.1x \div \text{Cpr}$$

(2) 按样本质量计算

酶活定义：每克组织每分钟水解 α -乙酸萘酯产生 1 μmol 的 α -萘酚为一个酶活力单位。

$$\text{HL 活性}(\text{U/g 质量}) = x \times V_{\text{样}} \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 0.1x \div W$$

(3) 按照细胞数量计算

酶活定义：每 10^4 个细胞每分钟水解 α -乙酸萘酯产生 1 μmol 的 α -萘酚为一个酶活力单位。

$$\text{HL 活性}(\text{U}/10^4 \text{ cell}) = x \times V_{\text{样}} \div (V_{\text{样}} \times N \div V_{\text{样总}}) \div T = 0.1x \div N$$

(4) 按液体体积计算

酶活定义：每毫升血清每分钟水解 α -乙酸萘酯产生 1 μmol 的 α -萘酚为一个酶活力单位。

$$\text{HL 活性}(\text{U/mL}) = x \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样}} \div T = 0.1x$$

注：V 样：反应体系中加入样本体积，0.02 mL；Cpr：样本蛋白浓度，mg/mL(蛋白浓度自行测定)；W：样本质量，g；V 样总：加入试剂 A 体积，1 mL；T：反应时间，10 min；N：细胞数量，以万计。

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