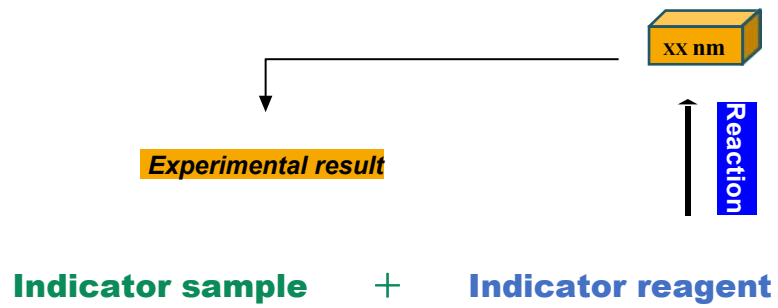


上海茁彩生物科技有限公司
Shanghai zcibio technology Co.,Ltd.



生化检测原理示意图

脂蛋白酯酶（LPL）&肝脂酶（HL）检测试剂盒说明书

可见分光光度法

注意：正式测定之前选择 2-3 个预期差异大的样本做预测定。

产品内容：

种类	试剂规格	储存条件	使用方法及注意事项
试剂一	液体 60mL×1 瓶	4℃保存	-
试剂二	粉剂×1 支	4℃避光保存	临用前加入 1.5mL 丙酮溶解备用
试剂三	液体 30mL×1 瓶	4℃保存	-
标准品	液体 1mL×1 支	4℃保存	5μmol/mL 对硝基苯酚标准溶液

产品简介：

脂蛋白酯酶（Lipoproteinlipase, LPL）是甘油三酯降解的降速酶，可催化甘油三酯水解为脂肪酸和单酸甘油酯，主要在肝脏实质细胞中合成，在脂质代谢和转运中发挥重要作用。

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

试验中所需的仪器和试剂：

可见分光光度计、低温台式离心机、水浴锅、1mL 玻璃比色皿、可调式移液枪、研钵/匀浆器、EP 管、冰、丙酮和蒸馏水。

操作步骤：

一、粗酶液提取：

1、细菌或培养细胞：先收集细菌或细胞到离心管内，离心后弃上清；按照细菌或细胞数量（ 10^4 个）：试剂一体积（mL）为 500~1000: 1 的比例（建议 500 万细菌或细胞加入 1mL 试剂一），超声波破碎细菌或细胞（冰浴，功率 20%或 200W，超声 3s，间隔 10s，重复 30 次）；10000g 4℃离心 10min，取上清，置冰上待测。

2、组织：按照组织质量（g）：提取液体积（mL）为 1: 5~10 的比例（建议称取约 0.1g 组织，加入 1mL 试剂一），进行冰浴匀浆。10000g 4℃离心 10min，取上清，置冰上待测。

3、血清（浆）样品：直接检测。

二、测定步骤：

1、分光光度计预热 30min 以上，调节波长至 400nm，蒸馏水调零。

2、将 5μmol/mL 标准液用试剂一稀释 16 倍至 0.3125 μmol/mL 的标准溶液备用。

3、操作表：在 1.5mL EP 管中进行下列操作：

样品名称	对照管	测定管	标准管	空白管
样品 (μL)	100	100	-	
标准管 (μL)	-	-	100	
蒸馏水 (μL)	-	-	-	100
试剂一 (μL)	400	360	400	400
试剂二 (μL)	-	40	-	-
混匀, 45°C水浴 10min			-	-
试剂三 (μL)	500	500	500	500

充分混匀放置 2min 后, 对照管和测定管 8000g 常温离心 10min, 取上清、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, $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}}$, $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准管}} - A_{\text{空白管}}$ 。

LPL 活性计算

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。

$$\text{LPL (U/mL)} = \Delta A \div (\Delta A_{\text{标准}} \div C_{\text{标准}}) \div T \times 1000 = 31.25 \times \Delta A \div \Delta A_{\text{标准}}$$

2、组织、细菌或细胞中 LPL 活力计算

a. 按样本鲜重计算

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。

$$\begin{aligned} \text{LPL (U/g 鲜重)} &= \Delta A \div (\Delta A_{\text{标准}} \div C_{\text{标准}}) \times V_{\text{提取}} \div W \div T \times 1000 \\ &= 31.25 \times \Delta A \div \Delta A_{\text{标准}} \div W. \end{aligned}$$

b. 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。

$$\begin{aligned} \text{LPL (U/mg prot)} &= \Delta A \div (\Delta A_{\text{标准}} \div C_{\text{标准}}) \times V_{\text{提取}} \div (V_{\text{提取}} \times C_{\text{pr}}) \div T \times 1000 \\ &= 31.25 \times \Delta A \div \Delta A_{\text{标准}} \div C_{\text{pr}}. \end{aligned}$$

c. 按细菌或细胞密度计算：

单位定义：在 45°C, 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。

$$\begin{aligned} \text{LPL (U/10}^4 \text{ cell)} &= \Delta A \div (\Delta A_{\text{标准}} \div C_{\text{标准}}) \times V_{\text{提取}} \div 500 \div T \times 1000 \\ &= 0.0625 \times \Delta A \div \Delta A_{\text{标准}}. \end{aligned}$$

C 标准：标准溶液浓度, 0.3125μmol/mL; V 提取：加入试剂一体积, 1 mL; 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、测定管加入试剂二后混变浑浊为正常现象。
- 2、若 A 大于 1，将粗酶液用试剂一稀释后再进行测定。
- 3、标准曲线线性范围为 0.01 -0.625 $\mu\text{mol}/\text{mL}$ 。