

肝脂酶 (HL) 检测试剂盒 (微量法)

货号: PMK1141

保存: -20°C 避光保存 6 个月

规格: 48T/96T

适用样本: 血清 (浆)、组织、细胞

产品简介

肝脂酶 (hepaticlipase, HL) 是一种脂肪分解酶, 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, 可水解各种脂蛋白中的甘油三酯 (TG) 和磷脂 (PL), 使各种脂蛋白颗粒的大小和密度发生变化, 促进脂蛋白中的胆固醇向类固醇激素转化。当血浆中的 HL 活性增高时, 可导致血浆中低密度脂蛋白 (LDL) 水平升高, 加速动脉粥样硬化的发生与发展。本试剂盒提供了一种简便的比色测定法, 用于测定样本中的肝脂酶活性。其原理是肝脂酶 (HL) 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, 其颜色深浅在一定范围内与肝脂酶活性成正相关。测定 595nm 处光吸收的增加量来计算 HL 活性。

产品内容

试剂盒组分	规格		储存条件
	48T	96T	
试剂一	55mL	110mL	4°C 保存
试剂二	0.5mL	1mL	4°C 避光保存
试剂三	4mL	8mL	4°C 保存
试剂四	0.5mL	1mL	4°C 避光保存
标准品	粉剂 × 1 支	粉剂 × 1 支	4°C 避光保存

自备耗材

酶标仪或可见分光光度计 (能测 595nm 处的吸光度)
 96 孔板或微量玻璃比色皿、可调节式移液枪及枪头
 恒温箱、低温离心机、制冰机
 丙酮、去离子水
 匀浆器 (如果是组织样本) / 细胞超声破碎仪 (如果是细胞样本)

试剂准备

注意: 各组分 (小管试剂) 开盖前, 请先低速离心。

试剂一: 即用型; 4°C 保存。

试剂二: 即用型; 使用前, 平衡到室温; 4°C 避光保存。

试剂三: 即用型; 使用前, 平衡到室温; 4°C 保存。

试剂四: 即用型; 使用前, 平衡到室温; 4°C 避光保存。

标准品: 含 10mg α -萘酚, 临用前加入 6.94 mL 丙酮, 配成 10 μ mol/mL α -萘酚标准溶液, 充分溶解待用, 用不完的可 -20°C 保存 4 周。

标准曲线设置: 按下表所示, 用试剂一将 10 μ mol/mL 的标准溶液稀释为 5、2.5、1.25、0.625、0.313、0.156、0.078 μ mol/mL 的标准溶液备用。

标准品体积 (μ L)	试剂一体积 (μ L)	标准品浓度 (μ mol/mL)
------------------	------------------	-----------------------

产品说明书

标准品 1	100 μ L of 10 μ mol/mL	100	5
标准品 2	100 μ L of 标准品 1 (5 μ mol/mL)	100	2.5
标准品 3	100 μ L of 标准品 2 (2.5 μ mol/mL)	100	1.25
标准品 4	100 μ L of 标准品 3 (1.25 μ mol/mL)	100	0.625
标准品 5	100 μ L of 标准品 4 (0.625 μ mol/mL)	100	0.313
标准品 6	100 μ L of 标准品 5 (0.313 μ mol/mL)	100	0.156
标准品 7	100 μ L of 标准品 6 (0.156 μ mol/mL)	100	0.078

注意：每次实验，请使用新配制的标准品。

样本制备

组织：称取 0.1g 样本，加入 1mL 试剂一，冰浴匀浆，10,000g，4℃离心 10min，取上清液，置冰上待测。

细胞：收集 500 万细胞到离心管内，用冷 PBS 清洗细胞，离心后弃上清，加入 1mL 试剂一，冰浴超声波破碎 5min（功率 20%或 200W，超声 3s，间隔 7s，重复 30 次），然后 10,000g，4℃离心 10min，取上清液，置冰上待测。

血清（浆）等液体样本：直接测定（若液体有浑浊则离心后进行测定）。

注意：推荐使用新鲜样本，如果不立即进行实验，样本可在-80℃保存 1 个月。如需测定蛋白浓度，推荐使用 BCA 法蛋白质定量试剂盒进行样本蛋白质浓度测定。

实验步骤

1. 酶标仪或可见分光光度计预热 30min 以上，调节波长到 595nm，可见分光光度计去离子水调零。
2. 样本测定（在 96 孔板或微量玻璃比色皿中依次加入下列试剂）：

	标准孔（ μ L）	空白孔（ μ L）	对照孔（ μ L）	测定孔（ μ L）
标准品	20	0	0	0
样本上清液	0	0	20	20
试剂一	90	110	90	80
试剂二	0	0	0	10
混匀，30℃孵育 10min				
试剂三	80	80	80	80
试剂四	10	10	10	10

充分混匀，30℃静置 5min，测定 595nm 处吸光值，分别记为 $A_{标准}$ 、 $A_{空白}$ 、 $A_{对照}$ 、 $A_{测定}$ 。计算 $\Delta A_{标准} = A_{标准} - A_{空白}$ ， $\Delta A_{测定} = A_{测定} - A_{对照}$ 。标准曲线和空白只要做一次即可，每个测定管需要设一个对照管。

注意：实验之前建议选择 2-3 个预期差异大的样本做预实验。如果 ΔA 小于 0.005 可适当加大样本量。如果 $A_{测定}$ 大于 1.0，样本可用试剂一适当稀释，计算结果乘以稀释倍数。

结果计算

1. 标准曲线的绘制：

以标准品浓度为 y 轴， $\Delta A_{标准}$ 为 x 轴，绘制标准曲线（浓度为 y 轴更方便计算结果）。将 $\Delta A_{测定}$ 带入方程计算出 y 值（ μ mol/mL）。

2. 样本 HL 活性计算

（1）按样本质量计算

酶活性单位定义：在一定条件下，每 g 组织在反应体系中每分钟水解 α -乙酸萘酯产生 1 μ mol 的 α -萘酚为一个酶活力单位 U。

HL 活性(U/g 质量) = $(y \times V_{反总}) \div (W \times V_{样} \div V_{样总}) \div T = 0.55y \div W$

（2）按液体样本体积计算

产品说明书

酶活性单位定义：在一定条件下，每 mL 液体样本在反应体系中每分钟水解 α -乙酸萘酯产生 $1 \mu\text{mol}$ 的 α -萘酚为一个酶活力单位 U。

$$\text{HL 活性 (U/mL)} = (y \times V_{\text{反总}}) \div V_{\text{样}} \div T = 0.55y$$

(3) 按细胞数量计算

酶活性单位定义：在一定条件下，每 1 万个细胞样本在反应体系中每分钟水解 α -乙酸萘酯产生 $1 \mu\text{mol}$ 的 α -萘酚为一个酶活力单位 U。

$$\text{HL 活性 (U/10}^4 \text{ cell)} = (y \times V_{\text{反总}}) \div (500 \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 0.0011 \times y$$

(4) 按蛋白浓度计算

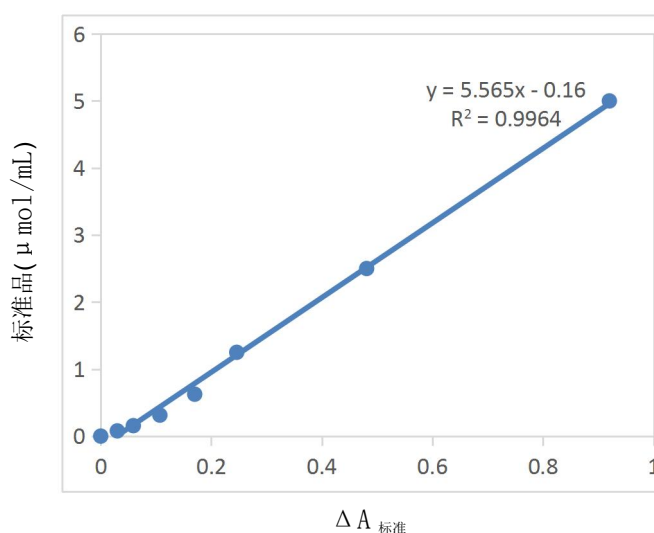
酶活性单位定义：在一定条件下，每 mg 组织蛋白在反应体系中每分钟水解 α -乙酸萘酯产生 $1 \mu\text{mol}$ 的 α -萘酚为一个酶活力单位 U。

$$\text{HL 活性 (U/mg prot)} = (y \times V_{\text{反总}}) \div (C_{\text{pr}} \times V_{\text{样}}) \div T = 0.55y \div C_{\text{pr}}$$

$V_{\text{反总}}$ ：反应体系总体积，0.11mL； $V_{\text{样}}$ ：加入样本体积，0.02mL； $V_{\text{样总}}$ ：加入试剂一体积，1mL； T ：反应时间，10min； W ：样本鲜重，g；500：细菌或细胞总数，500 万； C_{pr} ：样本蛋白质浓度，mg/mL。

结果展示

典型标准曲线



注意事项

1. 实验过程中请穿戴实验服、口罩和乳胶手套。请按照生物实验室的国家安全规定进行实验，尤其是在检测血样或其他体液时。
2. 本试剂盒仅用于实验室科学研究，如果本试剂盒用于临床诊断或任何其他用途，我们将不对任何后果负责。
3. 本试剂盒应在有效期内使用，并请严格按照说明书进行存储。
4. 不同批次号、不同厂家之间的组分不要混用；否则，可能导致结果异常。
5. 勤换吸头，避免各组分之间的交叉污染。

相关产品：

- PMK1149 脂蛋白酯酶 (LPL) 检测试剂盒 (微量法)
- PMK1142 甘油三酯 (TG) 检测试剂盒 (微量法)
- PMK1137 游离脂肪酸 (FFA) 检测试剂盒 (微量法)
- PMK1019 脂肪酸合成酶 (FAS) 检测试剂盒 (微量法)
- PMK1138 脂肪酶 (LPS) 检测试剂盒 (微量法)

更多产品详情了解，请关注公众号：

