

## 脂蛋白酯酶 (Lipoprotein lipase, LPL) 试剂盒说明书

### 微量法 100T/48S

正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定

#### 测定意义:

脂蛋白酯酶是脂肪细胞、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。

#### 测定原理:

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。

#### 组成:

产品名称	FA034-100T/48S	Storage
试剂一: 液体	105ml	4°C
试剂二: 液体	4ml	4°C避光
试剂三: 液体	10ml	4°C
说明书	一份	

#### 自备仪器和用品:

天平、冷冻离心机、研钵、水浴锅、可见分光光度计/酶标仪、微量石英比色皿/96 孔板。

#### 样品处理:

1. 组织: 按照质量 (g) : 试剂一体积(ml)为 1: 5~10 的比例 (建议称取约 0.1g, 加入 1ml 试剂一) 加入试剂一, 冰浴匀浆后于 4°C, 10000g 离心 10min, 取上清待测。
2. 细胞: 按照细胞数量 ( $10^4$  个) : 试剂一体积 (ml) 为 500~1000: 1 的比例 (建议 500 万细胞加入 1ml 试剂一) 加入试剂一, 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°C, 10000g 离心 10min, 取上清待测。
3. 血清: 直接测定。

#### 测定操作:

	对照管	测定管
样品 ( $\mu$ l)	20	20
试剂一 ( $\mu$ l)	80	
试剂二 ( $\mu$ l)		80

最终解释权所有 © 伊势久 (江苏连云港) 生物科技有限责任公司, 保留一切权利



混匀, 45°C水浴 10min		
试剂三 (μl)	100	100
充分混匀, 25°C静置 2min, 于微量石英比色皿/96孔板, 测定 400nm 处吸光值, 记为 A 对照管和 A 测定管, $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}}$		

### 计算公式:

用微量石英比色皿测定的计算公式如下

标准曲线:  $y = 0.0581x - 0.0169$ ,  $R^2 = 0.9982$

#### 1. 按照蛋白浓度计算

**酶活性定义:** 在 45°C, pH7.5 条件下, 每毫克蛋白每分钟水解产生 1μmol 4-硝基苯酚为一个酶活力单位。

$$\begin{aligned} \text{LPL 活性 } (\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg prot}) &= (\Delta A + 0.0169) \div 0.0581 \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \times C_{\text{pr}}) \div T \\ &= 17.21 \times (\Delta A + 0.0169) \div C_{\text{pr}} \end{aligned}$$

#### 2. 按照样本质量计算

**酶活性定义:** 在 45°C, pH7.5 条件下, 每克组织每分钟水解产生 1μmol 4-硝基苯酚为一个酶活力单位。

$$\begin{aligned} \text{LPL 活性 } (\mu\text{mol}/\text{min}/\text{g 鲜重}) &= (\Delta A + 0.0169) \div 0.0581 \times V_{\text{反总}} \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T \\ &= 17.21 \times (\Delta A + 0.0169) \div W \end{aligned}$$

#### 3. 按照细胞数量计算

**酶活性定义:** 在 45°C, pH7.5 条件下, 每 10<sup>4</sup> 个细胞每分钟水解产生 1μmol 4-硝基苯酚为一个酶活力单位。

$$\begin{aligned} \text{LPL 活性 } (\mu\text{mol}/\text{min}/10^4 \text{ cell}) &= (\Delta A + 0.0169) \div 0.0581 \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \times \text{细胞数量} \div V_{\text{样总}}) \div T \\ &= 17.21 \times (\Delta A + 0.0169) \div \text{细胞数量} \end{aligned}$$

#### 4. 按照液体体积计算

**酶活性定义:** 在 45°C, pH7.5 条件下, 每毫升血清每分钟水解产生 1μmol 4-硝基苯酚为一个酶活力单位。

$$\begin{aligned} \text{LPL 活性 } (\mu\text{mol}/\text{min}/\text{ml}) &= (\Delta A + 0.0169) \div 0.0581 \times V_{\text{反总}} \div V_{\text{样}} \div T \\ &= 17.21 \times (\Delta A + 0.0169) \end{aligned}$$

V 反总: 反应总体积, 0.2ml; V 样: 反应体系中加入样本体积, 0.02ml; W: 样本质量, g; V 样总: 加入提取液体积, 1ml; T: 反应时间, 10min

#### b. 用 96 孔板测定的计算公式如下

标准曲线:  $y = 0.029x - 0.0169$ ,  $R^2 = 0.9982$

#### 1. 按照蛋白浓度计算

**酶活性定义:** 在 45°C, pH7.5 条件下, 每毫克蛋白每分钟水解产生 1μmol 4-硝基苯酚为一个酶活力单位。

$$\begin{aligned} \text{LPL 活性 } (\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg prot}) &= (\Delta A + 0.0169) \div 0.029 \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \times C_{\text{pr}}) \div T \\ &= 34.42 \times (\Delta A + 0.0169) \div C_{\text{pr}} \end{aligned}$$

#### 2. 按照样本质量计算

**酶活性定义:** 在 45°C, pH7.5 条件下, 每克组织每分钟水解产生 1μmol 4-硝基苯酚为一个酶活力单位。

$$\text{LPL 活性 } (\mu\text{mol}/\text{min}/\text{g 鲜重}) = (\Delta A + 0.0169) \div 0.029 \times V_{\text{反总}} \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T$$

最终解释权所有 © 伊势久 (江苏连云港) 生物科技有限责任公司, 保留一切权利



$$= 34.42 \times (\Delta A + 0.0169) \div W$$

### 3. 按照细胞数量计算

**酶活性定义：**在 45°C, pH7.5 条件下, 每 10<sup>4</sup> 个细胞每分钟水解产生 1 μmol 4-硝基苯酚为一个酶活力单位。

$$\begin{aligned} \text{LPL 活性 } (\mu\text{mol} / \text{min} / 10^4 \text{ cell}) &= (\Delta A + 0.0169) \div 0.029 \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \times \text{细胞数量} \div V_{\text{样总}}) \div T \\ &= 34.42 \times (\Delta A + 0.0169) \div \text{细胞数量} \end{aligned}$$

### 4. 按照液体体积计算

**酶活性定义：**在 45°C, pH7.5 条件下, 每毫升血清每分钟水解产生 1 μmol 4-硝基苯酚为一个酶活力单位。

$$\begin{aligned} \text{LPL 活性 } (\mu\text{mol} / \text{min} / \text{ml}) &= (\Delta A + 0.0169) \div 0.029 \times V_{\text{反总}} \div V_{\text{样}} \div T \\ &= 34.42 \times (\Delta A + 0.0169) \end{aligned}$$

V 反总：反应总体积, 0.2ml; V 样：反应体系中加入样本体积, 0.02ml; W：样本质量, g; V 样总：加入提取液体积, 1ml; T：反应时间, 10min

### 注意事项：

1. 试剂三加入混匀后静置两分钟立即测定, 否则影响吸光值。
2. 吸光值过高或者测定结果不稳定, 则将酶液进行适当的稀释, 并在计算公式中乘以稀释倍数。

