

肝酯酶（HL）检测试剂盒（微量法）

产品货号：BA1145

产品规格：100管/48样

产品简介：

肝酯酶（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，当血浆中的HL及其活性增高时，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。

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，其颜色深浅在一定范围内与肝酯酶活性成正相关。

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。如果样本吸光值不在测量范围内建议稀释或者增加样本量进行检测。

试验中所需的仪器和试剂：

可见分光光度计/酶标仪、天平、低温离心机、水浴锅、微量玻璃比色皿/96孔板、可调式移液枪、研钵/匀浆器、漩涡震荡仪、EP管、丙酮、蒸馏水。

产品组成：

试剂名称	规格	保存条件
试剂一	液体110mL×1瓶	2-8℃
试剂二	液体1.5mL×1瓶	2-8℃
试剂三	粉剂×1瓶	2-8℃
试剂四	粉剂×2支	-20℃
标准品	粉剂×1瓶	2-8℃

溶液的配制：

1. 试剂三：临用前加入10mL双蒸水，充分溶解待用，用不完的4℃保存两周；
2. 试剂四：临用前取1支加入1mL双蒸水，充分溶解，用不完的试剂可-20℃分装保存一周，避免反复冻融；
3. 标准品：临用前加入6.94mL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-20℃保存两周。

操作步骤（仅供参考）：

一、样本处理（可适当调整待测样本量，具体比例可以参考文献）

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℃，10000 \times g离心10min，取上清待测。
2. 细胞：按照细胞数量（10⁴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℃，10000 \times g离心10min，取上清待测。
3. 血清/血浆：直接测定。

二、测定步骤

1. 分光光度计/酶标仪预热30min以上，调节波长至595nm，用蒸馏水调零。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

QQ：807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com

- 将试剂三在 30℃ 预热 20min 以上。
- 将 10 μmol/mL 的标准溶液用试剂一稀释为 5、2.5、1.25、0.625、0.3125、0.15625、0.078 μmol/mL 的标准溶液备用。
- 操作表：

	对照管	测定管	标准管	空白管
样品 (μL)	20	20	-	-
标准溶液 (μL)	-	-	20	-
试剂一 (μL)	90	80	80	100
试剂二 (μL)	-	10	10	10
混匀, 30℃ 反应 10 min				
试剂三 (μL)	80	80	80	80
试剂四 (μL)	10	10	10	10
充分混匀, 测定 595nm 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 $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}}$, $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准管}} - A_{\text{空白管}}$ 。(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)				

三、HL 酶活计算

1. 标准曲线的绘制：

以各个标准溶液的浓度为 x 轴, 其对应的 ΔA 标准为 y 轴, 绘制标准曲线, 得到标准方程 $y = kx + b$, 将 ΔA 带入方程得到 x (μmol/mL)。

2. HL 酶活的计算：

(1) 按蛋白浓度计算

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。

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

(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。

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

(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。

HL 活性 (U/ 10^4 cell) = $x \times V_{\text{样}} \div (V_{\text{样}} \times \text{细胞数量 (万个)} \div V_{\text{样总}}) \div T = 0.1x \div \text{细胞数量 (万个)}$

(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。

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

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; 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：加入试剂一体积, 1mL; T：反应时间, 10min。

注意事项：

- 若样本为动物肝脏, 建议将样本用试剂一稀释 25 倍以上再进行检测, 并在计算公式中乘以稀释倍数。
- 若样本为肥胖型动物血清或血浆, 建议将样本用试剂一稀释 5 倍以上再进行检测, 并在计算公式中乘以稀释倍数。
- 当 ΔA 大于 1.3 时, 建议将样本用试剂一稀释后再进行测定, 并在计算公式中乘以稀释倍数。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址: 郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话: 400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱: zzlybio@126.com