

关于氧化低密度脂蛋白使用说明

一、泡沫细胞造模

Medlife 提供两种氧化程度的低密度脂蛋白，氧化低密度脂蛋白，货号:PC21364，高氧化（程度）低密度脂蛋白，货号:PC21365。

PC21364 广泛用于脂代谢研究，能显著增加一些具有吞噬功能的细胞脂质集聚（荷脂），荷脂超过一定比例形成泡沫细胞（Foam cells），除 PC21364 外，我们的乙酰化低密度脂蛋白同样能诱导相应细胞内脂质集聚。

文献上多用大/小鼠原代腹腔分离的单核-巨噬细胞造荷脂模型，新鲜分离的单核-巨噬细胞膜上含丰富的清道夫受体，可摄取修饰后的低密度脂蛋白如：氧化低密度脂蛋白，乙酰化低密度脂蛋白，大部分文献报道 80-120ug/ml 的 PC21364 能在 24-48 小时诱导理想的泡沫细胞模型。也有更低浓度的报道：50ug/ml 或以下。我们保证 PC21364 在 80-120ug/ml 能在腹腔新鲜分离的巨噬细胞上造模成功。

除原代分离的巨噬细胞外，文献报道较多是 Raw264.7 巨噬细胞和 THP-1 细胞，由于一些实验室这两种细胞代数较高或来源复杂，会出现随着代数增加细胞膜上清道夫受体减少的可能，泡沫细胞造模出现困难，我们建议使用代数低的细胞，最好使用活体原代分离的巨噬细胞增加造模成功的把握。

二、细胞凋亡的造模

PC21364 属于低-中度氧化程度的氧化低密度脂蛋白，对少数脆弱，敏感，实验室自行原代分离内皮细胞可产生损伤，但对市场上一些动/静脉内皮细胞系，RAW264.7 和 THP-1 诱导 CCK-8 实验的 OD 值下降效果弱，客户可通过降低培养过程中血清浓度来增加氧化低密度脂蛋白细胞损伤或诱导凋亡效果，用 0.5-5% 的血清，具体要看细胞能耐受多低的血清，如果细胞能耐受低于 0.5% 以下血清，说明其耐受凋亡的能力很强，PC21364 可能观察不到

CCK-8 实验 OD 值的下降，更高浓度氧化低密度脂蛋白时甚至有 5-10% 的 OD 值增加（孔板液体体积增加吸光度和氧化应激的双向效果导致）。这类细胞实质上是肿瘤化的细胞系，建议客户采用毒性更大的化学物质造模。

三、关于炎症的造模

有文献报道修饰后低密度脂蛋白可诱导巨噬细胞或内皮细胞产生致炎因子或者粘附因子，由于致炎因子的种类很多且出现的时间不一样，我们没对产品做过这方面检验，也不能保证一定有阳性结果。如客户试用过程中没检测到炎症因子的改变，我们建议客户：1：尽量使用低代数的细胞系或原代细胞。2：氧化低密度脂蛋白溶于含有 0.1-0.2mM EDTA-2Na（可影响钙、镁离子信号）PBS 中，建议空白对照使用含有 0.1-0.2mM EDTA-2Na 的 PBS。3：炎症因子出现时间点不一定与泡沫化的终点时间重叠，客户可以做一些时效检测，考虑 mRNA 出现改变常可能比蛋白早等因素。

四，关于脂蛋白的浓度

低密度脂蛋白是大颗粒混合物，核心骨架为 ApB100，其外部结合了大量的胆固醇，甘油三酯和其他脂肪分子，低密度脂蛋白无固定分子量，颗粒的平均直径约 25nm，平均分子量超过 2000KD，低密度脂蛋白和修饰后的低密度脂蛋白无法直接用摩尔计算浓度计算，文献上多使用蛋白含量来衡量其浓度，即每毫升液体含有多少蛋白质，由于每个 ApB100 分子携带的脂质并不固定，相同的蛋白质浓度时脂质含量可有较大差别，此外，当低密度脂蛋白纯度不高时，可能混有高密度脂蛋白或白蛋白，球蛋白，这时以蛋白质计算模式就更不准确了。因此使用绝对蛋白质含量测定低密度脂蛋白浓度有很大局限。考虑到我们的客户主要利用低密度脂蛋白来研究脂质代谢，脂质含量是最重要的因素，因此，我们采用氧化前 LDL-C 含量来衡量低密度脂蛋白的浓度：溶液中的每 4.5mM 的 LDL-C 折算于 1mg/ml，实际上这时候低密度脂蛋白对应的蛋白测定浓度已超过了 1mg/ml，可到达 1.5-2.5mg/ml 或更高。我们同时也为客户提供 BCA 测定的蛋白浓度数据方便客户需要时采用。

五，关于脂蛋白保质期和沉淀的处理

无论高、低密度脂蛋白还是修饰标记后的脂蛋白都在 2-8 度冷藏长期保存，冷冻和冻融可永久破坏脂蛋白结构，我们所有的脂蛋白产品都不能冷冻保存。Medlife 提供的大部分脂蛋白有 6 周保质期（PC 21365 除外），随保存时间推移，脂蛋白可能会聚集形成沉淀，轻度聚集后的脂蛋白被分散后也可与细胞受体结合并不影响使用，为了减少脂蛋白颗粒聚集，我们建议：1. 轻拿轻放脂蛋白不要剧烈震荡；2. 不能冷冻；3. 如果聚集形成，不要用力抽吸，快速抽吸加重聚集，4. 现配现用尽快用完。如果客户实验需要去除沉淀，最简单的办法是用 0.1-0.22um 的无菌针头滤器过滤。另外，脂蛋白也有可能一些脂质脱落产生比重较轻的漂浮物，这些脱落的脂质一般不对脂蛋白与受体结合产生影响。

六，关于诱导/抑制特定基因或蛋白质表达

在动脉粥样硬化研究过程中，研究者常用氧化低密度脂蛋白或高氧化的低密度脂蛋白去刺激细胞如：各种血管内皮细胞，各种巨噬细胞，骨髓分离的干细胞，血管平滑肌细胞，成纤维细胞等，期望某些特定 mRNA 或蛋白质或信号通路如同文献报道一样的改变，这类实验非常个性化，受到细胞来源，细胞代数，细胞培养条件，血清浓度，细胞状态，刺激时间点，对照组设置等等诸多因素影响，结果常常并不一致，可能不如客户预期一模一样，在此我们声明，这类个性化的实验请客户根据自己实验需要酌情试用和探索。

七，关于批次之间的差异

脂蛋白是从血浆中分离出来的大颗粒混合物，不同健康个体来源血浆脂蛋白中 LDL-C，总胆固醇，甘油三脂，及各种载脂蛋白都可能有明显的差异，无论经蛋白含量校正还是 LDL-C 校正后都会有显而易见的差异，经氧化或乙酰化后会更大，处理细胞时可能会产生生物级别的显著差异，如果您的实验细胞对脂蛋白敏感（原代分离细胞多见），消除各批次间差异最好的办法是每次使用前做浓度梯度预实验（25，50，100ug/ml），然后选适合的浓度进行后续实验。