

CheKine™ 脂蛋白酯酶（LPL）活性检测试剂盒（微量法）

货号: KTB2251

规格: 48 T/24 S

96 T/48 S

批号: 见产品标签

	检测范围: 0.039-2.5 μmol/mL		灵敏度: 0.039 μmol/mL
	适用样本: 动物组织、细胞、血清（浆）或其他液体		
	保质期: 4℃避光保存 6 个月		

01 背景与原理

脂蛋白酯酶（Lipoprotein Lipase, LPL）（EC 3.1.1.34）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。

本试剂盒检测原理是 LPL 水解 4-硝基苯棕榈酸酯产生 4-硝基苯酚，在 400 nm 有特征吸收峰。

02 包装清单

试剂盒组分	规格		储存要求
	48 T	96 T	
Reagent I	71 mL	71×2 mL	4℃
Reagent II	Powder×1 vial	Powder×1 vial	4℃，避光保存
Reagent III	14 mL	28 mL	4℃
Standard	1 mL	1 mL	4℃，避光保存

*请在实验前检查各组分的量。

*各组分在规格基础上额外提供 10% 的量用于进行标准曲线制作或预实验。

03 自备仪器与试剂

自备资源类型	资源名称	备注
仪器	酶标仪	能测 400 nm 处的吸光度
耗材	96 孔酶标板	普通透明板
试剂	PBS/丙酮	样本清洗用/试剂配制用
其他	匀浆器（组织样本）、恒温水浴锅、恒温箱、制冰机、离心机、超声破碎仪、可调节式移液枪及枪头	检测量较大时合理使用多通道移液器有助于提高实验效率

04 注意事项

- 正式检测前，建议选择 2-3 个预期差异较大的样本进行预实验。
- 对于组织样本及细胞样本等，可通过测定蛋白浓度来进行样本间结果均一化。推荐使用亚科因货号：KTD3001 的蛋白质定量试剂盒（BCA 法）。
- 本试剂盒兼容分光光度计检测，请按照分光光度计检测要求按比例调节检测试剂配制量。如有疑问，可咨询本司技术人员（400-6800-830）。
- 建议实验者自行建立标准曲线以提高结果准确度。如未自行建立标准曲线，可参考结果展示部分的典型标准曲线公式进行结果计算。
- 生化检测试剂普遍具有刺激性、生物毒性等，为了您的安全和健康，请在实验全程做好生物安全防护，穿戴实验服、口罩、手套、头套等安全护具，在通风橱、生物安全柜中进行实验。
- 本产品仅供科学研究使用，不适用于临床诊断。

05 实验流程

05-1 试剂准备

试剂名称	试剂准备	注意事项
Reagent I	即用型；使用前平衡到室温	4℃保存
Working Reagent II	临用前配制；48 T 加入 0.6 mL 丙酮，96 T 加入 1.2 mL 丙酮溶解备用	未用完的试剂-20℃避光可以保存 4 周
Reagent III	即用型；使用前平衡到室温	4℃保存
Standard	即用型；使用前平衡到室温；5 μmol/mL 对硝基苯酚标准溶液	4℃避光保存；Standard 有毒，建议在通风橱进行实验

05-1-2 标准品配制

使用 5 $\mu\text{mol/mL}$ 对硝基苯酚标准液，按照下表所示，进一步稀释成标准品。按下表所示，进行下一步稀释。每次实验都要做一次标准品检测，制作标曲；稀释后的标准品溶液不稳定，必须在 4 小时内使用。

序号	Standard 体积	Reagent I 体积 (μL)	浓度 ($\mu\text{mol/mL}$)
1	500 μL 5 $\mu\text{mol/mL}$ Standard	500	2.5
2	500 μL of 2.5 $\mu\text{mol/mL}$	500	1.25
3	500 μL of 1.25 $\mu\text{mol/mL}$	500	0.625
4	500 μL of 0.625 $\mu\text{mol/mL}$	500	0.313
5	500 μL of 0.313 $\mu\text{mol/mL}$	500	0.156
6	500 μL of 0.156 $\mu\text{mol/mL}$	500	0.078
7	500 μL of 0.078 $\mu\text{mol/mL}$	500	0.039
空白	0	500	0

05-2 样本制备

注意：推荐使用新鲜样本，如果不立即进行实验，样本可在 -80°C 保存 1 个月。测定时，应控制解冻的温度和时间。室温环境下解冻时，需在 4 h 内完成样品解冻。

- 动物组织：称取约 0.1 g 样本，加入 1 mL Reagent I，冰浴匀浆，10000 g， 4°C 离心 10 min，取上清置冰上待测。
- 细胞：收集 5×10^6 个细胞，用预冷的 PBS 清洗细胞，800 g 离心 2 min，弃上清。加入 1 mL Reagent I 进行冰浴超声破碎。超声波破碎 3 min（功率 300 W，超声 3 s，间隔 7 s，重复 18 次），10000 g， 4°C 离心 10 min，取上清置于冰上待测。
- 血清（浆）等液体样本：直接测定。

05-3 实验步骤

注意：测定孔加入 Working Reagent II 后变浑浊为正常现象。

1. 酶标仪准备：预热 30 min 以上，调节波长到 400 nm。
2. 检测体系配制：每个测定孔需设一个对照孔，标准曲线和空白孔只需做 1 次。在 96 孔板中按照如下方式加样：

试剂	对照孔 (μL)	测定孔 (μL)	标准孔 (μL)	空白孔 (μL)
样本上清	20	20	0	0
Standard	0	0	20	0
Reagent I	8	0	8	20
Working Reagent II	0	8	0	8
混匀， 45°C 孵育 10 min			无需孵育，继续加入以下试剂	
Reagent III	172	172	172	172

3. 吸光度检测：充分混匀， 25°C 静置 2 min，测定 400 nm 处吸光值，分别记为 $A_{\text{测定}}$ 、 $A_{\text{空白}}$ 、 $A_{\text{对照}}$ 和 $A_{\text{标准}}$ 。

06 结果计算

06-1 自动计算

为帮助您更轻松、准确地完成相关计算，我们特在官网提供了“在线计算器小工具”。您无需手动计算，只需在网页上输入数值，即可快速获得可靠结果。访问方式：请扫描右侧二维码或访问官网[\[https://www.abbkine.cn\]](https://www.abbkine.cn) > 进入“技术中心”> 查找“在线计算器”工具。



06-2 手动计算

以下为您提供的推导过程计算公式和简洁计算公式，两者完全相等。

1. 数据处理

计算 $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ ， $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}$

2. 标准曲线绘制

以标准溶液浓度为 y 轴， $\Delta A_{\text{标准}}$ 为 x 轴，绘制标准曲线，得到标准方程，将 $\Delta A_{\text{测定}}$ 带入方程得到 y ($\mu\text{mol/mL}$)。

3. 样本 LPL 活性计算

● 按蛋白浓度计算

酶活单位定义：在 45℃，pH 7.5 条件下，每 mg 蛋白每分钟水解产生 1 nmol 4-硝基苯酚为一个酶活力单位。

$$\text{LPL(U/mg prot)} = y \times V_{\text{提取}} \div (V_{\text{提取}} \times \text{Cpr}) \div T \times 1000 = 100 \times y \div \text{Cpr}$$

● 按样本鲜重计算

酶活单位定义：在 45℃，pH 7.5 条件下，每 g 组织每分钟水解产生 1 nmol 4-硝基苯酚为一个酶活力单位。

$$\text{LPL(U/g)} = y \times V_{\text{提取}} \div W \div T \times 1000 = 100 \times y \div W$$

● 按细胞数量计算

酶活单位定义：在 45℃，pH 7.5 条件下，每 10^4 个细胞每分钟水解产生 1 nmol 4-硝基苯酚为一个酶活力单位。

$$\text{LPL(U/10}^4\text{)} = y \times V_{\text{提取}} \div N \div T \times 1000 = 100 \times y \div N$$

● 按液体体积计算

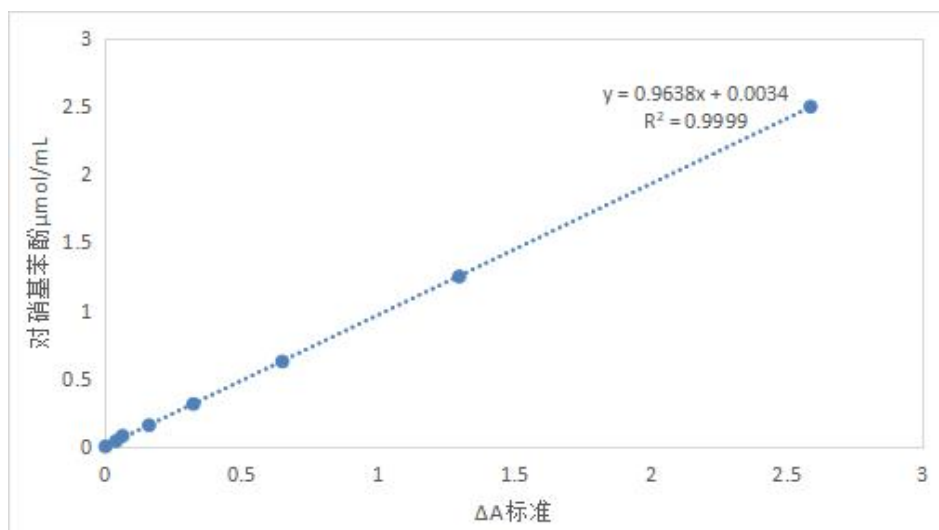
酶活单位定义：在 45℃，pH 7.5 条件下，每 mL 液体样本每分钟水解产生 1 nmol 4-硝基苯酚为一个酶活力单位。

$$\text{LPL(U/mL)} = y \div T \times 1000 = 100 \times y$$

$V_{\text{提取}}$ ：加入 Reagent I 总体积，1 mL；Cpr：样本蛋白质浓度，mg/mL；T：反应时间，10 min；1000：单位换算系数，1 μmol = 1000 nmol；W：样品质量，g；N：细胞数量，以 10^4 为单位（例如细胞数量为 5×10^6 ，N=500）。

07 结果展示

典型标准曲线： $y = 0.9638x + 0.0034$ ， $R^2 = 0.9999$



示例-1: 取 0.1 g 小鼠肌肉, 按照测定步骤操作, 用 96 孔板进行检测。测得 $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}} = 0.318 - 0.154 = 0.164$, 代入标准曲线, 计算 $y = 0.161$ 。按样本质量计算得: $LPL(U/g) = 100 \times y \div w = 161 U/g$ 。

08 FAQ

● 检测得到的样本 $\Delta A_{\text{测定}}$ 过高或者过低怎么办？

如果 $\Delta A_{\text{测定}}$ 小于 0.05 可适当加大样本量。如果 $\Delta A_{\text{测定}}$ 大于 2.5 $\mu\text{mol/mL}$ $\Delta A_{\text{标准}}$ 值, 样本可用 Reagent I 进一步稀释, 或减少提取用样本量, 最后计算酶活时对公式进行修改。

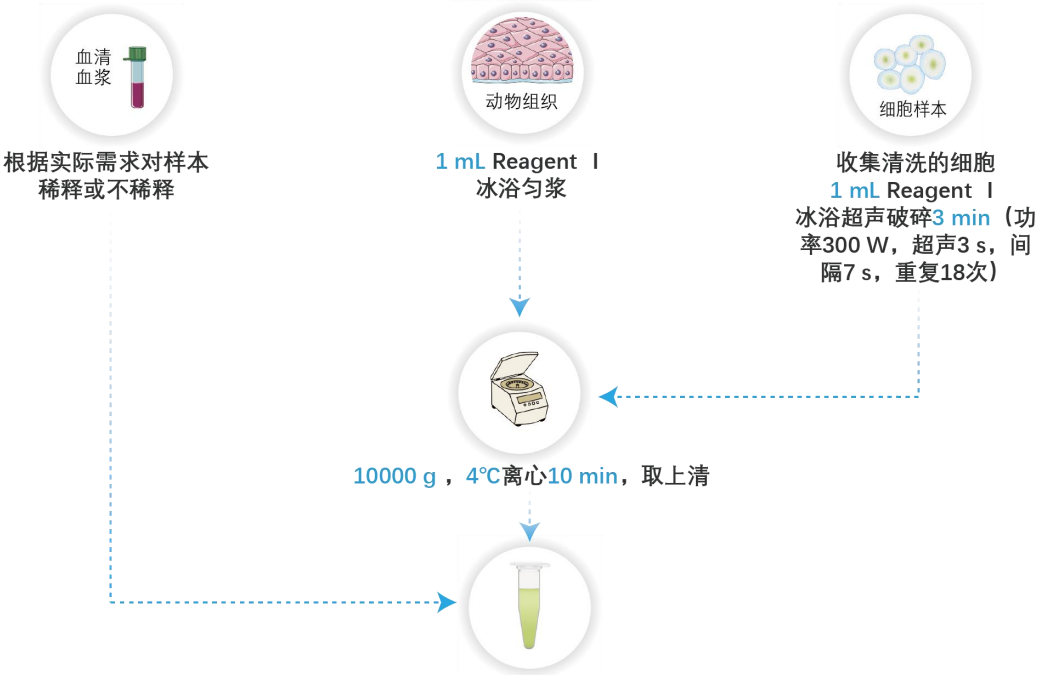
09 相关产品

货号	试剂盒名称
KTB1015	CheKine™ α -葡萄糖苷酶活性检测试剂盒（微量法）
KTB1121	CheKine™ 丙酮酸（PA）含量检测试剂盒（微量法）

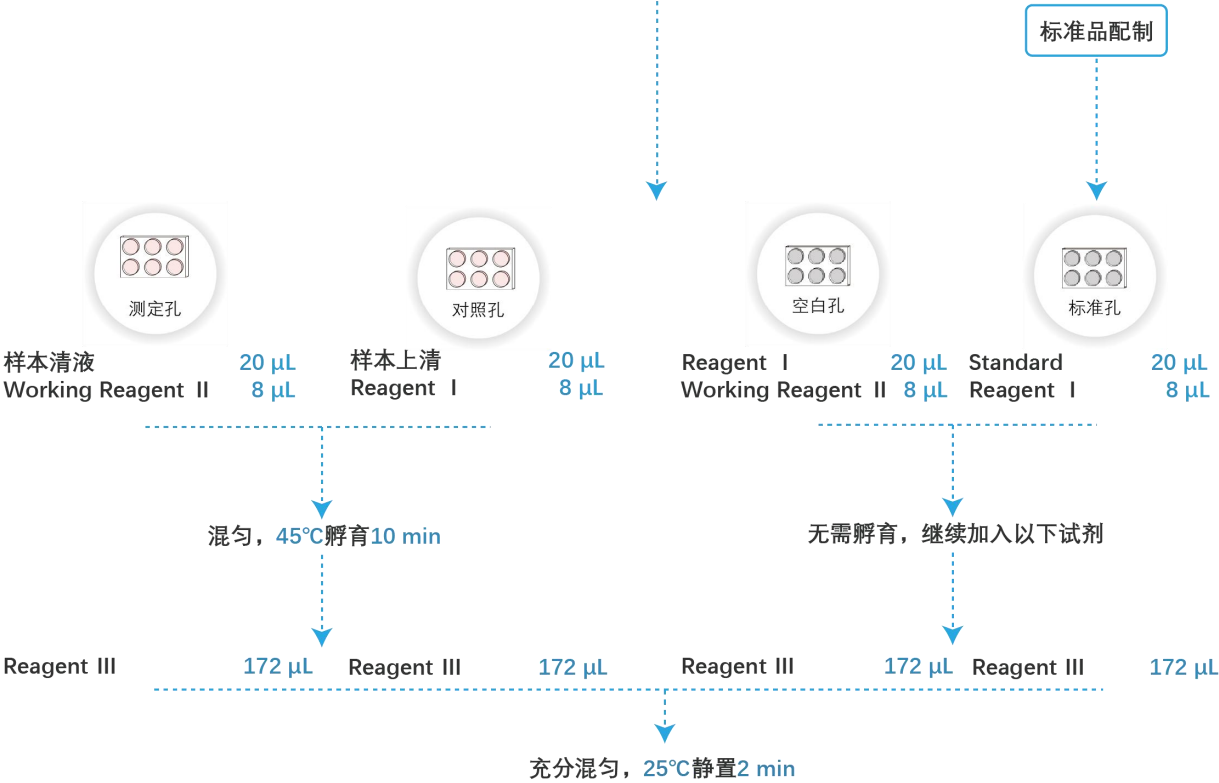
CheKine™ 脂蛋白酯酶（LPL）活性检测流程示意图

(Abbkine 货号：KTB2251)

样本处理



体系配置



数据检测

