

CheKine™ 肝脂酶（HL）活性检测试剂盒（微量法）

货号: KTB2300

规格: 48 T/24 S

96 T/48 S

批号: 见产品标签

	适用样本: 动植物组织、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

肝脂酶（hepaticlipase, HL, EC 3.1.1.3）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。

本试剂盒的检测原理是 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 595 nm 有特征吸收峰，其颜色深浅在一定范围内与 HL 活性成正相关。

02 包装清单

试剂盒组分	规格		储存要求
	48 T	96 T	
Reagent I	70 mL	70 mL×2	4℃
Reagent II	0.7 mL	1.4 mL	4℃，避光保存
Reagent III	6 mL	12 mL	4℃
Reagent IV	Powder×1 vial	Powder×1 vial	4℃，避光保存
Standard	Powder×1 vial	Powder×1 vial	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 595 nm 处的吸光度
耗材	96 孔酶标板	普通透明板
试剂	去离子水、丙酮	试剂配制用
其他	匀浆器或研钵（组织样本）、恒温水浴锅、制冰机、低温离心机、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）。
- 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
Reagent II	即用型；使用前平衡到室温	4℃避光保存； Reagent II 有毒，建议在通风橱进行实验
Reagent III	即用型；使用前 30℃预热 20 min 以上	4℃保存；若有沉淀析出属正常现象，室温静置至沉淀消失即可（期间请勿大力摇晃）
Working Reagent IV	临用前配制；48 T 加入 0.7 mL 去离子水，96 T 加入 1.4 mL 去离子水，吹打至充分溶解	未用完的试剂分装-20℃避光可以保存 2 周，避免反复冻融
10 μmol/mL Standard	临用前配制；加入 1 mL 丙酮配制成 10 μmol/mL 的α-萘酚标准溶液	未用完的 10 μmol/mL 的α-萘酚标准溶液-20℃避光可以保存 2 周； Standard 有刺激性气味，建议在通风橱进行实验
0.3125 μmol/mL Working Standard	临用前配制；吸取 30 μL 10 μmol/mL 的α-萘酚标准溶液于 EP 管中，向其中加入 930 μL Reagent I 配制成 0.3125 μmol/mL 的α-萘酚标准品	0.3125 μmol/mL 的α-萘酚标准溶液现配现用； Standard 有刺激性气味，建议在通风橱进行实验

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，则把分装的组织块保存在-80℃，一个月内使用。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。

- 动植物组织：称取约 0.1 g 样本，加入 1 mL Reagent I，冰浴匀浆。10000 g，4℃离心 10 min，取上清液，

置冰上待测。

- 血清（浆）等液体样本：直接测定。若溶液有浑浊则离心后取上清进行测定。

05-3 实验步骤

注意：1.Reagent III出现气泡可静置，待气泡消失，加样时不要吸到气泡。

2.Working Reagent IV可能会析出少量沉淀，吹打使其充分溶解。

3.若样本为动物肝脏，建议将样本用 Reagent I 稀释 25 倍以上再进行检测，若样本为肥胖型动物血清或血浆，建议将样本用 Reagent I 稀释 5 倍以上再进行检测。

1. 酶标仪准备：预热 30 min 以上，调节波长到 595 nm。

2. 检测体系配制：每个测定管孔设一个对照孔，标准孔和空白孔只用测 1-2 次。在 96 孔板中按照如下方式操作：

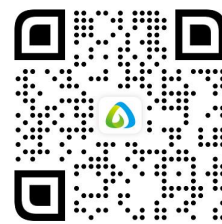
试剂	测定孔 (μL)	对照孔 (μL)	标准孔 (μL)	空白孔 (μL)
样本上清	20	20	0	0
0.3125 μmol/mL Standard	0	0	20	0
Reagent I	80	90	80	100
Reagent II	10	0	10	10
充分混匀，30℃反应 10 min			无需反应，直接加入以下试剂	
Reagent III	80	80	80	80
Working Reagent IV	10	10	10	10

3. 吸光度检测：充分混匀，30℃静置 5 min 后，测定 595 nm 处吸光值，分别记为 $A_{\text{测定}}$ 、 $A_{\text{对照}}$ 、 $A_{\text{标准}}$ 、 $A_{\text{空白}}$ 。

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. 样本 HL 活力的计算

- 按样本蛋白浓度计算

酶活单位定义：每 mg 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。

$$HL (U/mg \text{ prot}) = C_{\text{标准}} \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \times V_{\text{样}} \div (C_{\text{pr}} \times V_{\text{样}}) \div T = 0.03125 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div C_{\text{pr}}$$

- 按样本质量计算

酶活单位定义：每 g 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。

$$HL (U/g) = C_{\text{标准}} \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \times V_{\text{样}} \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 0.03125 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div W$$

- 按样本体积计算

酶活单位定义：每 mL 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。

$$HL (U/mL) = C_{\text{标准}} \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样}} \div T = 0.03125 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}}$$

$C_{\text{标准}}$ ：α-萘酚标准品浓度，0.3125 μmol/mL； $V_{\text{样}}$ ：反应体系中加入样本体积，0.02 mL； $V_{\text{样总}}$ ：加入 Reagent I

总体积，1 mL；Cpr：样本蛋白浓度，mg/mL；T：反应时间，10 min；W：样品质量，g。

07 结果展示

示例-1: 取 0.100 g 小鼠肝脏，按照样本制备步骤提取，将样本上清用 Reagent I 稀释 150 倍，按照测定步骤操作，用 96 孔板进行检测。测得 $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}} = 0.520 - 0.055 = 0.465$ 、 $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}} = 0.366 - 0.161 = 0.205$ ，稀释 150 倍的小鼠肝脏样本按样本质量计算得：HL (U/g) = $0.03125 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div W = 0.709$ 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 0.7，可适当减少样本量，再重新进行测定。

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™ 肝脂酶 (HL) 活性检测流程示意图

(Abbkin 货号：KTB2300)

样本处理



血清
血浆

根据实际需求对样本稀释或不稀释，若溶液有浑浊则离心后取上清进行测定。



动植物组织

称取约0.1 g样本，加入1 mL Reagent I，冰浴匀浆



10000 g，4℃离心10 min，取上清



体系配置



测定孔

样本上清 20 μ L
Reagent I 80 μ L
Reagent II 10 μ L



对照孔

样本上清 20 μ L
Reagent I 90 μ L



空白孔

Reagent I 100 μ L
Reagent II 10 μ L



标准孔

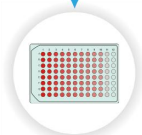
Standard 20 μ L
Reagent I 80 μ L
Reagent II 10 μ L

充分混匀，30℃反应10 min，然后每孔分别加入80 μ L Reagent III和10 μ L Working Reagent IV

无需反应，直接每孔分别加入80 μ L Reagent III和10 μ L Working Reagent IV

充分混匀，30℃静置5 min

数据检测



测定595 nm吸光度
结果计算