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，可催化甘油三脂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	21 mL	42 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 μmol/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（μmol/mL）
1	500 μL 5 μmol/mL Standard	500	2.5
2	500 μL of 2.5 μmol/mL	500	1.25
3	500 μL of 1.25 μmol/mL	500	0.625
4	500 μL of 0.625 μmol/mL	500	0.313
5	500 μL of 0.313 μmol/mL	500	0.156
6	500 μL of 0.156 μmol/mL	500	0.078
7	500 μL of 0.078 μmol/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℃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℃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℃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：每个测定管需设一个对照管，标准曲线和空白管只需做 1 次。在 1.5 mL EP 管中按照如下方式加样:

试剂	对照管（μL）	测定管（μL）	标准管（μL）	空白管（μL）
样本上清	30	30	0	0
Standard	0	0	30	0
Reagent Ⅰ	12	0	12	42
Working Reagent Ⅱ	0	12	0	0
	混匀，45℃孵育 10 min		**无需孵育，继续加入以下试剂**	
Reagent Ⅲ	258	258	258	258
	充分混匀，25℃静置 2 min，10000 g，25℃离心 2 min			

3. 吸光度检测：吸取 200 μL 上清液转移至 96 孔板中，测定 400 nm 处吸光值，分别记为 $A_{测定}$、$A_{空白}$、$A_{对照}$和

$A_{标准}$。

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**] > 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$\Delta A_{测定}=A_{测定}-A_{对照}$，$\Delta A_{标准}=A_{标准}-A_{空白}$

2. 标准曲线绘制

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

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

- 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。

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

- 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。

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

- 按液体体积计算

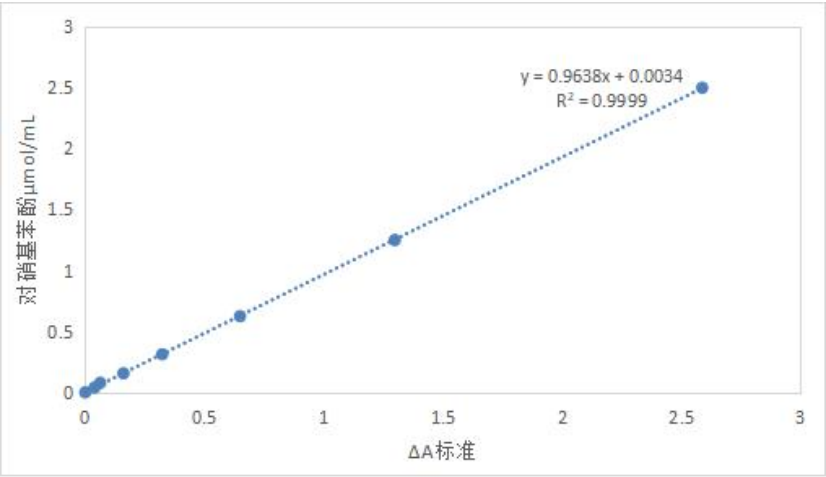
酶活单位定义：在 45℃，pH 7.5 条件下，每 mL 液体样本每分钟水解产生 1 nmol 4-硝基苯酚为一个酶活力单位。

$LPL(U/mL)=y\div T\times 1000$**$=100\times y$**

$V_{提取}$：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$\Delta A_{测定}=A_{测定}-A_{对照}=0.318-0.154=0.164$，代入标准曲线，计算 y=0.161。按样本质量计算得：LPL(U/g)=100×y÷w=161 U/g。

08 FAQ

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

如果$\Delta A_{测定}$小于 0.05 可适当加大样本量。如果$\Delta A_{测定}$大于 2.5 μmol/mL $\Delta A_{标准}$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



根据实际需求对样本
稀释或不稀释



1 mL Reagent Ⅰ
冰浴匀浆



收集清洗的细胞
1 mL Reagent Ⅰ
冰浴超声破碎3 min（功率300 W，超声3 s，间隔7 s，重复18次）

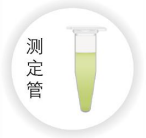


10000 g，4℃离心10 min，取上清



体系配置

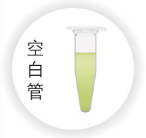
标准品配制



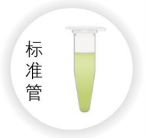
样本清液 30 μL
Working Reagent Ⅱ 12 μL



样本上清 30 μL
Reagent Ⅰ 12 μL



Reagent Ⅰ 42 μL



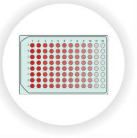
Standard 30 μL
Reagent Ⅰ 12 μL

混匀，45℃孵育10 min

无需孵育，继续加入以下试剂

每管加入Reagent Ⅲ 258 μL
充分混匀，25℃静置2 min
10000 g，25℃离心10 min
吸取200 μL上清液转移至96孔板中

数据检测



测定400 nm吸光度
结果计算

V1.0