



脂蛋白酯酶 (LPL) 活性检测试剂盒
Lipoprotein Lipase (LPL) Activity Assay Kit



北京盒子生工科技有限公司
Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.



脂蛋白酯酶 (LPL) 活性检测试剂盒

Lipoprotein Lipase (LPL) Activity Assay Kit

一、产品描述

脂蛋白酯酶 (LPL) 主要在脏器实质细胞中合成和分泌, 可催化甘油三酯水解为脂肪酸和单酰甘油酯, 作为甘油三酯降解的限速酶, 在脂质吸收、转运、清除及代谢过程中发挥着重要作用。

脂蛋白酯酶能够催化 4-硝基苯棕榈酸酯水解生成 4-硝基苯酚, 产物在 400 nm 处具有特征吸收峰, 通过吸光值变化即可表征脂蛋白酯酶的活性。

二、产品内容

名称	试剂规格	储存条件	使用方法及注意事项
试剂一	液体 80 mL×1 瓶	4°C保存	-
试剂二	粉剂×1 支	4°C保存	使用前加入 1.5 mL 丙酮充分溶解
试剂三	液体 20 mL×1 瓶	4°C保存	-
标准液	液体 1 mL×1 支	4°C保存	5 μmol/mL 对硝基苯酚标准液
标准应用液的制备: 使用前将 5 μmol/mL 对硝基苯酚标准液使用试剂一稀释 16 倍至 0.3125 μmol/mL 即为标准应用液。			

需自备试剂: 丙酮 (CH₃COCH₃, MW = 58.08, CAS: 67-64-1)

三、产品使用说明

测定过程中所需要的仪器和试剂: 可见分光光度计/酶标仪、微量玻璃比色皿 (光径 10 mm) /96 孔板、研钵/匀浆器、可调式移液器、台式离心机、恒温水浴/培养箱、丙酮和蒸馏水。

1. 粗酶液的制备 (可根据预实验结果适当调整样本量及比例)

① 细菌或细胞: 离心收集细菌或细胞至离心管内, 按照细菌或细胞数量 (10⁴ 个): 试剂一体积 (mL) 为 (500-1000): 1 的比例 (建议 500 万细菌或细胞加入 1 mL 试剂一) 处理样品, 冰浴超声破碎 (功率 20% 或 200 W, 超声 3 s, 间隔 10 s, 重复 30 次), 4°C 10000 g 离心 10 min, 取上清置于冰上待测。

② 组织: 按照组织质量 (g): 试剂一体积 (mL) 为 1: (5-10) 的比例 (建议称取 0.1 g 组织, 加入 1 mL 试剂一) 处理样品, 冰浴匀浆, 4°C 10000 g 离心 10 min, 取上清置于冰上待测。

③ 血清 (浆)、培养液等液体样本: 直接检测或适当稀释后再进行检测。

2. 测定步骤

①分光光度计或酶标仪预热 30 min 以上，调节波长至 400 nm，蒸馏水调零。

②在离心管中依次加入下列试剂：

试剂	测定管 (μL)	对照管 (μL)	标准管 (μL)	空白管 (μL)
粗酶液	30	30	-	-
标准应用液	-	-	30	-
蒸馏水	-	-	-	30
试剂一	108	120	120	120
试剂二	12	-	-	-
充分混匀，45°C准确反应 10 min				
试剂三	150	150	150	150
充分混匀，室温放置 2 min				
8000 g 常温离心 10 min，取上清液				

吸光值测定：吸取 200 μL 上清液至微量玻璃比色皿或 96 孔板中，测定 400 nm 处吸光值，记为 A 测定、A 对照、A 标准和 A 空白；计算 $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ ， $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}$ 。注：空白管只需测 1-2 次，每个样品均需设一个对照管。

3. 脂蛋白酯酶 (LPL) 活性计算

①按组织样本质量计算

单位定义：45°C pH=7.5 条件下，每 g 组织每分钟生成 1 nmol 4-硝基苯酚定义为一个酶活力单位。

$$\text{LPL (U/g)} = \frac{C_{\text{标}} \times \Delta A_{\text{测定}} \times V_{\text{提}} \times 1000}{\Delta A_{\text{标准}} \times W \times T} = \frac{31.25 \times \Delta A_{\text{测定}}}{W \times \Delta A_{\text{标准}}}$$

②按组织蛋白浓度计算

单位定义：45°C pH=7.5 条件下，每 mg 组织蛋白每分钟生成 1 nmol 4-硝基苯酚定义为一个酶活力单位。

$$\text{LPL (U/mg prot)} = \frac{C_{\text{标}} \times \Delta A_{\text{测定}} \times 1000}{\Delta A_{\text{标准}} \times C_{\text{pr}} \times T} = \frac{31.25 \times \Delta A_{\text{测定}}}{C_{\text{pr}} \times \Delta A_{\text{标准}}}$$

③按细菌或细胞数量计算

单位定义：45℃ pH=7.5 条件下，每 10⁴ 个细菌或细胞每分钟生成 1 nmol 4-硝基苯酚定义为一个酶活力单位。

$$\text{LPL (U/10}^4 \text{ cell)} = \frac{\text{C 标} \times \Delta\text{A 测定} \times \text{V 提} \times 1000}{\Delta\text{A 标准} \times \text{细菌或细胞数量} \times \text{T}} = \frac{31.25 \times \Delta\text{A 测定}}{\text{细菌或细胞数量} \times \Delta\text{A 标准}}$$

④按液体样本体积计算

单位定义：45℃ pH=7.5 条件下，每 mL 液体样本每分钟生成 1 nmol 4-硝基苯酚定义为一个酶活力单位。

$$\text{LPL (U/mL)} = \frac{\text{C 标} \times \Delta\text{A 测定} \times 1000}{\Delta\text{A 标准} \times \text{T}} = \frac{31.25 \times \Delta\text{A 测定}}{\Delta\text{A 标准}}$$

注释： C 标：标准应用液浓度，0.3125 μmol/mL； V 提：粗酶液总体积，1 mL； Cpr：样本蛋白浓度，mg/mL； W：样本质量，g； 细菌或细胞数量：以万计； T：反应时间，10 min； 1000：单位换算系数，1 μmol=1000 nmol。

四、注意事项

- ①测定管中加入试剂二后变浑浊为正常现象；
- ②若A测定大于1.5，建议将粗酶液使用试剂一适当稀释后再进行测定，计算时相应修改；
- ③为保证结果准确且避免试剂损失，测定前请仔细阅读说明书（以实际收到说明书内容为准），确认试剂储存和准备是否充分，操作步骤是否清楚，且务必取2-3个预期差异较大的样本进行预测定，过程中问题请您及时与工作人员联系。

For Research Use Only. Not for Use in Diagnostic Procedures.

boxbio

Manufactured and Distributed by

Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.
Liandong U Valley, Tongzhou District, Beijing, China
TEL: 400-805-8228

E-MAIL: techsupport@boxbio.cn

Copyright © 2020 Boxbio, All Rights Reserved.

