

# 脂蛋白酯酶（LPL）检测试剂盒（微量法）

货号：PMK1149

保存：-20℃避光保存 6 个月

规格：48T/96T

适用样本：血清（浆）、组织、细胞

## 产品简介

脂蛋白酯酶（Lipoproteinlipase, LPL）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。在脂质代谢和转运中发挥重要作用，并在不同的组织表现出不同的生理意义。本试剂盒可检测生物体内 LPL 活性，其原理是脂蛋白酯酶水解 4-硝基苯棕榈酸酯产生 4-硝基苯酚，在 400nm 有特征吸收峰。测定 400nm 处光吸收的增加量来计算 LPL 活性。

## 产品内容

试剂盒组分	规格		储存条件
	48T	96T	
试剂一	52.5mL	105mL	4℃保存
试剂二	2mL	4mL	-20℃避光保存
试剂三	5mL	10mL	4℃保存
标准品（5mM 对硝基苯酚）	1mL	1mL	4℃保存

## 自备耗材

酶标仪或可见分光光度计（能测 400nm 处的吸光度）

96 孔板或微量玻璃比色皿、可调节式移液枪及枪头

恒温箱、低温离心机、制冰机

去离子水

匀浆器（如果是组织样本）

## 试剂准备

**注意：各组分（小管试剂）开盖前，请先低速离心。**

试剂一：即用型；4℃保存。

试剂二：即用型；使用前，平衡到室温；-20℃避光保存。

试剂三：即用型；使用前，平衡到室温；4℃保存。

标准品：标准品为 5mM（ $\mu\text{mol/mL}$ ）的对硝基苯酚溶液，使用前，平衡到室温；4℃保存。

标准曲线设置：按下表所示，用试剂一将 5  $\mu\text{mol/mL}$  标准品稀释为 1000、500、250、125、62.5、31.25、15.6nmol/mL 的标准溶液。

	标准品体积 ( $\mu\text{L}$ )	试剂一体积 ( $\mu\text{L}$ )	标准品浓度 (nmol/mL)
标准品 1	40 $\mu\text{L}$ of 5 $\mu\text{mol/mL}$	160	1000
标准品 2	100 $\mu\text{L}$ of 标准品 1 (1000nmol/mL)	100	500
标准品 3	100 $\mu\text{L}$ of 标准品 2 (500nmol/mL)	100	250
标准品 4	100 $\mu\text{L}$ of 标准品 3 (250nmol/mL)	100	125

## 产品说明书

标准品 5	100 $\mu$ L of 标准品 4 (125nmol/mL)	100	62.5
标准品 6	100 $\mu$ L of 标准品 5 (62.5nmol/mL)	100	31.25
标准品 7	100 $\mu$ L of 标准品 6 (31.25nmol/mL)	100	15.6

**注意：每次实验，请使用新配制的标准品。**

### 样本制备

组织：称取 0.1g 样本，加入 1mL 试剂一，冰浴匀浆，10,000g，4℃离心 10min，取上清液，置冰上待测。

细胞：收集 500 万细胞到离心管内，用冷 PBS 清洗细胞，离心后弃上清，加入 1mL 试剂一，冰浴超声波破碎 5min（功率 20%或 200W，超声 3s，间隔 7s，重复 30 次），然后 10,000g，4℃离心 10min，取上清液，置冰上待测。

血清（浆）等液体样本：直接测定。

**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。如需测定蛋白浓度，推荐使用 BCA 法蛋白质定量试剂盒进行样本蛋白质浓度测定。**

### 实验步骤

1. 酶标仪或可见分光光度计预热 30min 以上，调节波长到 400nm，可见分光光度计去离子水调零。
2. 样本测定（在 96 孔板或微量玻璃比色皿中依次加入下列试剂）：

	标准孔（ $\mu$ L）	空白孔（ $\mu$ L）	对照孔（ $\mu$ L）	测定孔（ $\mu$ L）
标准品	20	0	0	0
样本上清液	0	0	20	20
试剂一	80	100	80	0
试剂二	0	0	0	80
混匀，45℃孵育 10min				
试剂三	100	100	100	100

充分混匀，25℃静置 2min，测定 400nm 处吸光值，分别记为  $A_{标准}$ 、 $A_{空白}$ 、 $A_{对照}$ 、 $A_{测定}$ 。计算  $\Delta A_{标准} = A_{标准} - A_{空白}$ ， $\Delta A_{测定} = A_{测定} - A_{对照}$ 。标准曲线和空白只要做一次即可，每个测定管需要设一个对照管。

**注意：实验之前建议选择 2-3 个预期差异大的样本做预实验。如果  $\Delta A$  小于 0.005 可适当加大样本量。如果  $A_{测定}$  大于 2，样本可用试剂一适当稀释，计算结果乘以稀释倍数。**

### 结果计算

#### 1. 标准曲线的绘制：

以标准品浓度为 y 轴， $\Delta A_{标准}$  为 x 轴，绘制标准曲线（浓度为 y 轴更方便计算结果）。将  $\Delta A_{测定}$  带入方程计算出 y 值（nmol/mL）。

#### 2. 样本 LPL 活性计算

##### （1）按样本质量计算

酶活性单位定义：在 45℃，pH7.5 条件下，每 g 组织在反应体系中每分钟水解产生 1nmol 对-硝基苯酚定义为一个酶活性单位 U。

$$\text{LPL 活性 (U/g 质量)} = (y \times V_{\text{反应}}) \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 0.5 \times y \div W$$

##### （2）按液体样本体积计算

酶活性单位定义：在 45℃，pH7.5 条件下，每 mL 液体样本在反应体系中每分钟水解产生 1nmol 对-硝基苯酚定义为一个酶活性单位 U。

$$\text{LPL 活性 (U/mL)} = (y \times V_{\text{反应}}) \div V_{\text{样}} \div T = 0.5 \times y$$

##### （3）按细胞数量计算

酶活性单位定义：在 45℃，pH7.5 条件下，每每 1 万个细胞样本在反应体系中每分钟水解产生 1nmol 对-硝基苯酚定义为一个酶活性单位 U。

$$\text{LPL 活性 (U/10}^4 \text{ cell)} = (y \times V_{\text{反应}}) \div (500 \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 0.001 \times y$$

##### （4）按蛋白浓度计算

## 产品说明书

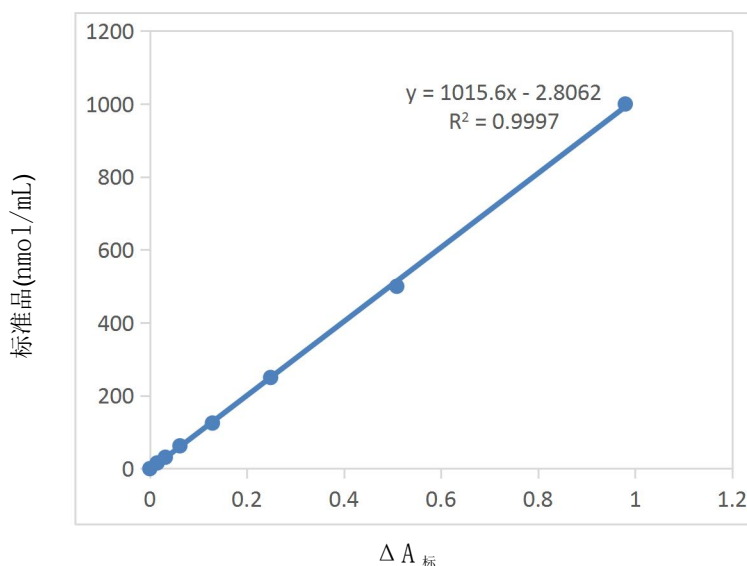
酶活性单位定义：在 45℃，pH7.5 条件下，每 mg 组织蛋白在反应体系中每分钟水解产生 1nmol 对-硝基苯酚定义为一个酶活性单位 U。

LPL 活性 (U/mg prot) =  $(y \times V_{\text{反总}}) \div (C_{\text{pr}} \times V_{\text{样}}) \div T = 0.5 \times y \div C_{\text{pr}}$

$V_{\text{反总}}$ ：反应体系总体积，0.1mL； $V_{\text{样}}$ ：加入样本体积，0.02mL； $V_{\text{样总}}$ ：加入试剂一体积，1mL；T：反应时间，10min；W：样本鲜重，g；500：细菌或细胞总数，500 万； $C_{\text{pr}}$ ：样本蛋白质浓度，mg/mL。

### 结果展示

典型标准曲线



### 注意事项

1. 实验过程中请穿戴实验服、口罩和乳胶手套。请按照生物实验室的国家安全规定进行实验，尤其是在检测血样或其他体液时。
2. 本试剂盒仅用于实验室科学研究，如果本试剂盒用于临床诊断或任何其他用途，我们将不对任何后果负责。
3. 本试剂盒应在有效期内使用，并请严格按照说明书进行存储。
4. 不同批次号、不同厂家之间的组分不要混用；否则，可能导致结果异常。
5. 勤换吸头，避免各组分之间的交叉污染。

### 相关产品：

- PMK1141 肝脂酶 (HL) 检测试剂盒 (微量法)
- PMK1142 甘油三酯 (TG) 检测试剂盒 (微量法)
- PMK1137 游离脂肪酸 (FFA) 检测试剂盒 (微量法)
- PMK1019 脂肪酸合成酶 (FAS) 检测试剂盒 (微量法)
- PMK1138 脂肪酶 (LPS) 检测试剂盒 (微量法)

更多产品详情了解，请关注公众号：

