

脂蛋白酯酶（LPL）检测试剂盒（微量法）

产品货号：BA1538

产品规格：100管/48样

产品简介

脂蛋白酯酶（Lipoproteinlipase, LPL）是甘油三酯降解的降速酶，可催化甘油三酯水解为脂肪酸和单酸甘油酯，主要在肝脏实质细胞中合成，在脂质代谢和转运中发挥重要作用。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。

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。如果样本吸光值不在测量范围内建议稀释或者增加样本量进行检测。

产品内容：

试剂名称	规格	保存条件
试剂一	液体80mL×1瓶	4℃
试剂二	粉剂×1支	4℃
试剂三	液体20mL×1瓶	4℃
标准品	液体1mL×1支	4℃

溶液的配制：

1. 试剂二：临用前加入1mL丙酮溶解备用；
2. 标准品：5 μ mol/mL对硝基苯酚标准溶液。

需自备的仪器和用品：

可见分光光度计/酶标仪、低温台式离心机、水浴锅、微量玻璃比色皿/96孔板、可调式移液枪、研钵/匀浆器、EP管、冰、丙酮和蒸馏水。

操作步骤（仅供参考）：

一、样本处理（可适当调整待测样本量，具体比例可以参考文献）

1. 细菌或培养细胞：先收集细菌或细胞到离心管内，离心后弃上清；按照细菌或细胞数量（ 10^4 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1mL试剂一），超声波破碎细菌或细胞（冰浴，功率20%或200W，超声3s，间隔10s，重复30次）；10000g 4℃离心10min，取上清，置冰上待测。
2. 组织：按照组织质量（g）：试剂一体积（mL）为1：5~10的比例（建议称取约0.1g组织，加入1mL试剂一），进行冰浴匀浆。10000g 4℃离心10min，取上清，置冰上待测。
3. 血清（浆）样本：直接检测。

二、测定步骤

1. 分光光度计/酶标仪预热30min以上，调节波长至400nm，蒸馏水调零。
2. 将5 μ mol/mL标准液用试剂一稀释16倍至0.3125 μ mol/mL的标准溶液备用。
3. 操作表：在1.5mL EP管中进行下列操作：

试剂名称（μL）	对照管	测定管	标准管	空白管
样本	30	30	-	-
标准管	-	-	30	-
蒸馏水	-	-	-	30



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com

试剂一	120	108	120	120
试剂二	-	12	-	-
混匀, 45℃水浴10min				
试剂三	150	150	150	150
充分混匀放置2min后, 对照管和测定管8000g常温离心10min, 取200 μL对照管和测定管的上清、标准管和空白管于微量玻璃比色皿/96孔板中测定400nm处吸光值, 记为A对照管、A测定管、A空白管、A标准管, $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}}$, $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准管}} - A_{\text{空白管}}$ 。				

三、LPL活性计算

1. 血清(浆) LPL活力计算

单位定义: 在45℃, pH7.5条件下, 每毫升血清每分钟水解产生1nmol 4-硝基苯酚为一个酶活力单位。

$$\text{LPL (U/mL)} = \Delta A \div (\Delta A_{\text{标准}} \div C_{\text{标准}}) \div T \times 1000$$

$$= 31.25 \times \Delta A \div \Delta A_{\text{标准}}$$

2. 组织、细菌或细胞中LPL活力计算

(1) 按样本质量计算

单位定义: 在45℃, pH7.5条件下, 每克组织每分钟水解产生1nmol 4-硝基苯酚为一个酶活力单位。

$$\text{LPL (U/g 质量)} = \Delta A \div (\Delta A_{\text{标准}} \div C_{\text{标准}}) \times V_{\text{提取}} \div W \div T \times 1000$$

$$= 31.25 \times \Delta A \div \Delta A_{\text{标准}} \div W$$

(2) 按样本蛋白浓度计算

单位定义: 在45℃, pH7.5条件下, 每毫克蛋白每分钟水解产生1nmol 4-硝基苯酚为一个酶活力单位。

$$\text{LPL (U/mg prot)} = \Delta A \div (\Delta A_{\text{标准}} \div C_{\text{标准}}) \times V_{\text{提取}} \div (V_{\text{提取}} \times C_{\text{pr}}) \div T \times 1000 = 31.25 \times \Delta A \div \Delta A_{\text{标准}} \div C_{\text{pr}}$$

标准 ÷ Cpr

(3) 按细菌或细胞数量计算:

单位定义: 在45℃, pH7.5条件下, 每10⁴个细胞每分钟水解产生1nmol 4-硝基苯酚为一个酶活力单位。

$$\text{LPL (U/10}^4 \text{ cell)} = \Delta A \div (\Delta A_{\text{标准}} \div C_{\text{标准}}) \times V_{\text{提取}} \div 500 \div T \times 1000$$

$$= 0.0625 \times \Delta A \div \Delta A_{\text{标准}}$$

C标准: 标准溶液浓度, 0.3125 μmol/mL; V提取: 加入试剂一体积, 1mL; T: 反应时间, 10min; Cpr: 样本蛋白质浓度, mg/mL; W: 样本质量, g; 500: 细菌或细胞总数, 500万; 1000: 单位换算系数, 1 μmol=1000nmol。

注意事项:

1. 测定管加入试剂二后混变浑浊为正常现象。
2. 若A大于2, 将粗酶液用试剂一稀释后再进行测定。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址: 郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话: 400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱: zzlybio@126.com