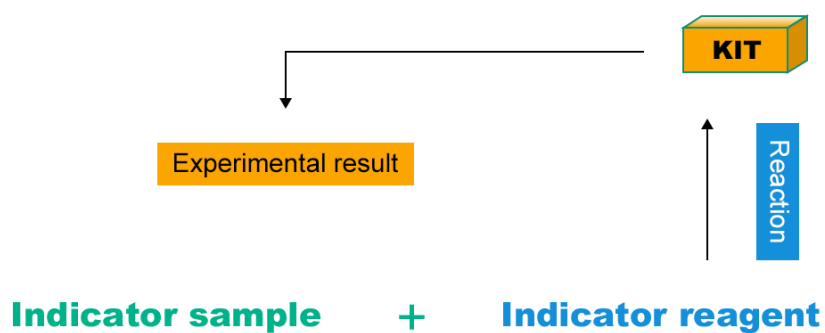


上海茁彩生物科技有限公司
ZCIBIO Technology Co., Ltd



生化检测原理示意图

Cat. NO: ZC-S0498

Size: 100T/48S

脂蛋白酯酶（LPL）检测试剂盒说明书

微量法

*正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定

一、测定意义：

脂蛋白酯酶是脂肪细胞、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，并在不同的组织表现出不同的生理意义。

二、测定原理：

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。

三、需自备的仪器和用品：

天平、冷冻离心机、研钵、水浴锅、可见分光光度计/酶标仪、微量石英比色皿/96 孔板。

四、试剂的组成和配置：

种类	试剂规格	储存条件	使用方法及注意事项
试剂一	液体 105mL×1 瓶	4℃保存	
试剂二	液体 4mL×1 瓶	4℃避光保存	
试剂三	液体 10mL×1 瓶	4℃保存	

五、样品处理

1. 组织：按照质量（g）：试剂一体积（mL）为 1：5~10 的比例（建议称取约 0.1g，加 1mL 试剂一）加入试剂一，冰浴匀浆后于 4℃，10000g 离心 10min，取上清待测。
2. 细胞：按照细胞数量（10⁴个）：试剂一体积（mL）为 500~1000：1 的比例（建议 50 万细胞加入 1m 试剂一）加入试剂一，冰浴超声波破碎细胞（功率 300w，超声 3 秒，间隔 7 秒，总时间 3min）；然后于 4℃，10000g 离心 10min，取上清待测。
3. 血清：直接测定。

六、测定操作

	对照管	测定管
样品（μL）	20	20
试剂一（μL）	80	
试剂二（μL）		80
混匀，45℃水浴 10min		
试剂三（μL）	100	100
充分混匀，25℃静置 2min，于微量石英比色皿/96 孔板，测定 400nm 处吸光值，记为 A 对照管和 A 测定管， $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}}$		

七、计算公式

- 用微量石英比色皿测定的计算公式如下

标准曲线： $y = 0.0581x - 0.0169$ ， $R^2 = 0.9982$

1. 按照蛋白浓度计算

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

$$\begin{aligned} \text{LPL 活性} (\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg prot}) &= (\Delta A + 0.0169) \div 0.0581 \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \times C_{\text{pr}}) \div T \\ &= 17.21 \times (\Delta A + 0.0169) \div C_{\text{pr}} \end{aligned}$$

2. 按照样本质量计算

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

$$\begin{aligned}\text{LPL 活性 } (\mu\text{mol}/\text{min}/\text{g}) &= (\Delta A + 0.0169) \div 0.0581 \times V_{\text{反总}} \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T \\ &= 17.21 \times (\Delta A + 0.0169) \div W\end{aligned}$$

3. 按照细胞数量计算

酶活性定义：在 45°C, pH7.5 条件下，每 10^4 个细胞每分钟水解产生 1 μmol 4-硝基苯酚为一个酶活力单位。

$$\begin{aligned}\text{LPL 活性 } (\mu\text{mol}/\text{min}/10^4\text{cell}) &= (\Delta A + 0.0169 \div 0.0581 \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \times \text{细胞数量} \div V_{\text{样总}}) \div T \\ &= 17.21 \times (\Delta A + 0.0169) \div \text{细胞数量}\end{aligned}$$

4. 按照液体体积计算

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

$$\text{LPL 活性 } (\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mL}) = (\Delta A + 0.0169) \div 0.0581 \times V_{\text{反总}} \div V_{\text{样}} \div T = 17.21 \times (\Delta A + 0.0169)$$

V 反总：反应总体积，0.2mL；V 样：反应体系中加入样本体积，0.02mL；W：样本质量，g；V 样总：加入提取液体积，1mL；T：反应时间，10min

● 用 96 孔板测定的计算公式如下

标准曲线： $y = 0.029x - 0.0169$, $R^2 = 0.9982$

1. 按照蛋白浓度计算

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

$$\begin{aligned}\text{LPL 活性 } (\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg prot}) &= (\Delta A + 0.0169) \div 0.029 \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \times C_{\text{pr}}) \div T \\ &= 34.42 \times (\Delta A + 0.0169) \div C_{\text{pr}}\end{aligned}$$

2. 按照样本质量计算

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

$$\text{LPL 活性 (}\mu\text{mol/min/g)} = (\Delta A + 0.0169) \div 0.029 \times V_{\text{反总}} \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T$$
$$= 34.42 \times (\Delta A + 0.0169) \div W$$

3. 按照细胞数量计算

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

$$\text{LPL 活性 (}\mu\text{mol/min/10}^4\text{cell)} = (\Delta A + 0.0169) \div 0.029 \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \times \text{细胞数量} \div V_{\text{样总}}) \div T$$
$$= 34.42 \times (\Delta A + 0.0169) \div \text{细胞数量}$$

4. 按照液体体积计算

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

$$\text{LPL 活性 (}\mu\text{mol/min/mL)} = (\Delta A + 0.0169) \div 0.029 \times V_{\text{反总}} \div V_{\text{样}} \div T = 34.42 \times (\Delta A + 0.0169)$$

V 反总：反应总体积，0.2mL；V 样：反应体系中加入样本体积，0.02mL；W：样本质量，g；V 样总：加入提取液体积，1mL；T：反应时间，10min

八、注意事项

1. 试剂三加入混匀后静置两分钟立即测定，否则影响吸光值。
2. 吸光值过高或者测定结果不稳定，则将酶液进行适当的稀释，并在计算公式中乘以稀释倍数。