

磷脂酶A2 (PLA2) 检测试剂盒 (微量法)

产品货号: BA1189

产品规格: 100管/48样

产品内容:

提取液: 液体100mL×1瓶, 4℃保存。

试剂一: 液体100mL×1瓶, 4℃保存。

试剂二: 液体20mL×1瓶, 4℃保存。

试剂三: 液体×5瓶, -20℃避光保存。临用前根据用量每瓶加入1.8mL试剂二充分混匀;
用不完的试剂分装后-20℃保存, 禁止反复冻融。

产品说明:

磷脂酶A2(EC3.1.1.4)是磷脂sn-2位脂酰基水解酶, 广泛存在于动植物组织、细菌、细胞核分泌物中, 参与脂肪消化, 精子成熟、细胞信号传递、脂质过氧化修复、宿主反应等生理过程, 在控制体内磷脂类物质平衡、调节机体新陈代谢、参与疾病的病理进程等方面发挥着及其重要的作用。

磷脂酶A2作用于2-硫代十六酰乙基磷酸胆碱(HEPC)产生游离巯基, 与DTNB反应生成黄色物质, 在412nm处有特征吸收峰。

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。

所需的仪器和用品:

天平、超速冷冻离心机、研钵、紫外分光光度计/酶标仪、微量石英比色皿/96孔板

操作步骤:

一、样品外理:

1. 组织: 按照质量(g): 提取液体积(mL)为1: 5~10的比例(建议称取约0.1g, 加入1mL提取液)加入提取液, 冰浴匀浆后于4℃, 10000g离心5min, 取全部上清于4℃、10000g离心30min, 弃上清, 取沉淀溶于1mL试剂一。
2. 细胞: 按照细胞数量(10^4 个):提取液体积(mL)为500~1000: 1的比例(建议500万细胞加入1mL提取液), 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5min, 取全部上清于4℃、10000g离心30min, 弃上清, 取沉淀溶于1mL试剂一。
3. 血清:直接测定。

二、测定步骤

	对照管	测定管
样品 (μL)	20	20
试剂二 (μL)	180	
试剂三 (μL)	0	180
充分混匀, 37℃反应10min, 于微量石英比色皿/96孔板, 蒸馏水调零, 测定412nm处吸光值, 记为A对照管和A测定管, $\Delta A = A_{测定管} - A_{对照管}$		

三、计算公式:



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司

Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址:上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话:400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱: saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com

a. 用微量石英比色皿测定的计算公式如下

1. 按照蛋白浓度计算

酶活性定义: 每毫克蛋白每分钟水解HEPC产生1nmol游离巯基所需的酶量为一个酶活力单位。

$$\begin{aligned}\text{PLA2活性(nmol/min/mg prot)} &= A \div (\epsilon \times d) \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \times C_{\text{pr}}) \div T \\ &= 73.53 \times \Delta A \div C_{\text{pr}}\end{aligned}$$

2. 按照样本质量计算

酶活性定义: 每克组织每分钟水解HEPC产生1nmol游离巯基所需的酶量为一个酶活力单位。

$$\begin{aligned}\text{PLA2活性(nmol/min/g鲜重)} &= \Delta A \div (\epsilon \times d) \times V_{\text{反总}} \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T \\ &= 73.53 \times \Delta A \div W\end{aligned}$$

3. 细胞数量计算

酶活性定义: 每 10^4 个细胞每分钟水解HEPC产生1nmol游离巯基所需的酶量为一个酶活力单位。

$$\begin{aligned}\text{PLA2活性(nmol/min}/10^4\text{cell)} &= \Delta A \div (\epsilon \times d) \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \times \text{细胞数量} \div V_{\text{样总}}) \div T \\ &= 73.53 \times \Delta A \div \text{细胞数量}\end{aligned}$$

4. 按照液体体积计算

酶活性定义: 每毫升血清每分钟水解HEPC产生1nmol游离巯基所需的酶量为一个酶活力单位。

$$\begin{aligned}\text{PLA2活性(nmol/min/mL)} &= \Delta A \div (\epsilon \times d) \times V_{\text{反总}} \div V_{\text{样}} \div T \\ &= 73.53 \times \Delta A\end{aligned}$$

ϵ : TNB消光系数, 13600L/mol/cm;

d: 比色皿光径, 1cm;

V反总: 反应总体积, 1mL;

V样: 反应体系中加入样本体积, 0.1mL;

W: 样本质量, g;

V样总: 加入提取液体积, 1mL;

T: 反应时间, 10min

b. 用96孔板测定的计算公式如下

1. 按照蛋白浓度计算

酶活性定义: 每毫克蛋白每分钟水解HEPC产生1nmol游离巯基所需的酶量为一个酶活力单位。

$$\begin{aligned}\text{PLA2活性(nmol/min/mg prot)} &= AA \div (\epsilon \times d) \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \times C_{\text{pr}}) \div T \\ &= 147.06 \times \Delta A \div C_{\text{pr}}\end{aligned}$$

2. 按照样本质量计算

酶活性定义: 每克组织每分钟水解HEPC产生1nmol游离巯基所需的酶量为一个酶活力单位。

$$\begin{aligned}\text{PLA2活性(nmol/min/g鲜重)} &= \Delta A \div (\epsilon \times d) \times V_{\text{反总}} \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T \\ &= 147.06 \times \Delta A \div W\end{aligned}$$

3. 细胞数量计算

酶活性定义: 每 10^4 个细胞每分钟水解HEPC产生1nmol游离巯基所需的酶量为一个酶活力单位。

$$\begin{aligned}\text{PLA2活性(nmol/min}/10^4\text{cell)} &= \Delta A \div (\epsilon \times d) \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \times \text{细胞数量} \div V_{\text{样总}}) \div T \\ &= 147.06 \times \Delta A \div \text{细胞数量}\end{aligned}$$

4. 按照液体体积计算

酶活性定义: 每毫升血清每分钟水解HEPC产生1nmol游离巯基所需的酶量为一个酶活力单位。

$$\begin{aligned}\text{PLA2活性(nmol/min/mL)} &= \Delta A \div (\epsilon \times d) \times V_{\text{反总}} \div V_{\text{样}} \div T \\ &= 147.06 \times \Delta A\end{aligned}$$

ϵ : TNB消光系数, 13600L/mol/cm;

d: 比色皿光径, 0.5cm;

V反总: 反应总体积, 1mL;

V样: 反应体系中加入样本体积, 0.1mL;

W: 样本质量, g;

V样总: 加入提取液体积, 1mL;

T: 反应时间, 10min



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司

Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址: 上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话: 400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱: saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com