

磷脂酶C (PLC) 检测试剂盒 (微量法)

产品货号: BA1205

产品规格: 100管/96样

产品简介:

磷脂酶C (EC3.1.4.3) 是一种水解甘油磷酸酯C3位点甘油磷酸酯键的脂类水解酶, 广泛存在于微生物及动植物的组织和细胞中, 在细胞代谢、细胞传递、生长发育等方面具有重要作用。

磷脂酶C催化水解NPPC产生对硝基苯酚, 在410nm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。

产品内容:

试剂名称	规格	保存条件
提取液	液体100mL×1瓶	2-8℃
试剂一	液体102mL×1瓶	2-8℃
试剂二	液体10mL×1瓶	2-8℃, 避光
试剂三	液体8mL×1瓶	2-8℃

需自备的仪器和用品:

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

操作步骤:

一、酶液提取

- 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01g, 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。
- 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。
- 血清: 直接测定。

二、测定操作

试剂名称 (μL)	空白管	测定管
样品		20
试剂一	20	
试剂二	100	100
充分混匀, 37℃反应30min		
试剂三	80	80
充分混匀, 于微量石英比色皿/96孔板, 蒸馏水调零, 测定410nm处吸光值, 分别记为A空白管和A测定管, $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{空白管}}$ 。		



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

三、酶活计算公式

a.用微量石英比色皿测定的计算公式如下

标准曲线: $y=0.0191x-0.0103$, $R^2=0.9991$

1. 按照蛋白浓度计算

酶活性定义: 每毫克蛋白每分钟水解NPPC产生1nmol对硝基苯酚所需的酶量为一个酶活力单位。

$$\begin{aligned} \text{PLC活性(nmol/min/mg prot)} &= (\Delta A + 0.0103) \div 0.0191 \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \times C_{\text{pr}}) \div T \\ &= 17.45 \times (\Delta A + 0.0103) \div C_{\text{pr}} \end{aligned}$$

2. 按照样本质量计算

酶活性定义: 每克组织每分钟水解NPPC产生1nmol对硝基苯酚所需的酶量为一个酶活力单位。

$$\begin{aligned} \text{PLC活性(nmol/min/g鲜重)} &= (\Delta A + 0.0103) \div 0.0191 \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times W) \div T \\ &= 17.45 \times (\Delta A + 0.0103) \div W \end{aligned}$$

3. 按照细胞数量计算

酶活性定义: 每 10^4 个细胞每分钟水解NPPC产生1nmol对硝基苯酚所需的酶量为一个酶活力单位。

$$\begin{aligned} \text{PLC活性(nmol/min}/10^4\text{cell)} &= (\Delta A + 0.0103) \div 0.0191 \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times \text{细胞数量}) \div T \\ &= 17.45 \times (\Delta A + 0.0103) \div \text{细胞数量} \end{aligned}$$

4. 按照液体体积计算

酶活性定义: 每毫升血清每分钟水解NPPC产生1nmol对硝基苯酚所需的酶量为一个酶活力单位。

$$\begin{aligned} \text{PLC活性(nmol/min/mL)} &= (\Delta A + 0.0103) \div 0.0191 \times V_{\text{反总}} \div V_{\text{样}} \div T \\ &= 17.45 \times (\Delta A + 0.0103) \end{aligned}$$

V反总: 反应总体积, 0.2mL; V样: 加入样本体积, 0.02mL; V样总: 加入提取液体积, 1mL; Cpr: 样本蛋白浓度, mg/mL; W: 样本质量, g; T: 反应时间, 30min

b.用96孔板测定的计算公式如下

标准曲线: $y=0.0095x-0.0103$, $R^2=0.9991$

1. 按照蛋白浓度计算

酶活性定义: 每毫克蛋白每分钟水解NPPC产生1nmol对硝基苯酚所需的酶量为一个酶活力单位。

$$\begin{aligned} \text{PLC活性(nmol/min/mg prot)} &= (\Delta A + 0.0103) \div 0.0095 \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \times C_{\text{pr}}) \div T \\ &= 35.09 \times (\Delta A + 0.0103) \div C_{\text{pr}} \end{aligned}$$

2. 按照样本质量计算

酶活性定义: 每克组织每分钟水解NPPC产生1nmol对硝基苯酚所需的酶量为一个酶活力单位。

$$\begin{aligned} \text{PLC活性(nmol/min/g鲜重)} &= (\Delta A + 0.0103) \div 0.0095 \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times W) \div T \\ &= 35.09 \times (\Delta A + 0.0103) \div W \end{aligned}$$

3. 按照细胞数量计算

酶活性定义: 每 10^4 个细胞每分钟水解NPPC产生1nmol对硝基苯酚所需的酶量为一个酶活力单位。

$$\begin{aligned} \text{PLC活性(nmol/min}/10^4\text{cell)} &= (\Delta A + 0.0103) - 0.0095 \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times \text{细胞数量}) \div T \\ &= 35.09 \times (\Delta A + 0.0103) \div \text{细胞数量} \end{aligned}$$

4. 按照液体体积计算

酶活性定义: 每毫升血清每分钟水解NPPC产生1nmol对硝基苯酚所需的酶量为一个酶活力单位。

$$\begin{aligned} \text{PLC活性(nmol/min/mL)} &= (\Delta A + 0.0103) \div 0.0095 \times V_{\text{反总}} \div V_{\text{样}} \div T \\ &= 35.09 \times (\Delta A + 0.0103) \end{aligned}$$

V反总: 反应总体积, 0.2mL; V样: 加入样本体积, 0.02mL; V样总: 加入提取液体积, 1mL; Cpr: 样本蛋白浓度, mg/mL; W: 样本质量, g; T: 反应时间, 30min。



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>