

磷脂酶D (PLD) 检测试剂盒 (微量法)

注意：正式测定之前选择2-3个预期差异大的样本做预测定。

产品货号：BA1201

产品规格：100管/96样

产品简介：

磷脂酶 D (EC3.1.4.4) 即磷脂酰胆碱水解酶，是催化磷酸二酯键水解和碱基交换反应的一类酶的总称，广泛存在于高等动植物和细菌等多种生物体中，具有参与细胞脂质代谢、信号传导、生物膜形成的抗逆境胁迫等生理功能。

磷脂酶 D 催化水解磷脂酰胆碱末端的磷脂酰二酯键生成磷脂酸和胆碱，胆碱在胆碱氧化酶催化作用下生成甜菜碱和过氧化氢，过氧化氢在过氧化氢酶的作用下将 4-氨基安替比林和重蒸酚氧化成粉红色物质，在 500nm 处有特征吸收峰。

产品内容：

试剂名称	规格	保存条件
提取液	液体 100mL×1 瓶	4°C
试剂一	液体 102mL×1 瓶	4°C 避光
试剂二	液体 3mL×1 瓶	4°C 避光
试剂三	粉剂×1 支	-20°C 避光
试剂四	液体 15mL×1 瓶	4°C 避光
标准品	液体 1mL×1 支	4°C 避光

溶液的配制：

1. 试剂三：临用前加 1mL 无水乙醇充分溶解；用不完的试剂分装后-20°C保存，禁止反复冻融。

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、无水乙醇。

操作步骤：

一、酶液提取

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°C，10000g 离心 5min，取全部上清于 4°C、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 (10⁴ 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°C，10000g 离心 5min，取全部上清于 4°C、10000g 离心 30min，弃上清，取沉淀溶于 1mL 试剂一。
3. 血清：直接测定。

二、测定操作

	空白管	标准管	测定管
试剂一 (μL)	20		
试剂二 (μL)	30	30	30
标准品 (μL)		20	
样品 (μL)			20
试剂三 (μL)	10	10	10
充分混匀，30°C反应 30min，沸水浴 1min，打开盖子，自然冷却 2min。			
试剂四 (μL)	140	140	140



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

30°C反应 30min, 于微量石英比色皿/96 孔板, 空白管调零, 测定 500nm 处吸光值, 分别记为 A 标准管和 A 测定管。

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

1. 按照蛋白浓度计算

酶活性定义: 每毫克蛋白每分钟水解磷脂酰胆碱产生1nmol胆碱所需的酶量为一个酶活力单位。

$$\text{PLD活性 (nmol/min/mg prot)} = \frac{A_{\text{测定管}}}{A_{\text{标准管}}} \times C_{\text{标准}} \div C_{\text{pr}} \div T = 16.7 \times \frac{A_{\text{测定管}}}{A_{\text{标准管}}} \div C_{\text{pr}}$$

2. 按照样本质量计算

酶活性定义: 每克组织每分钟水解磷脂酰胆碱产生1nmol胆碱所需的酶量为一个酶活力单位。

$$\text{PLD活性 (nmol/min/g鲜重)} = \frac{A_{\text{测定管}}}{A_{\text{标准管}}} \times C_{\text{标准}} \div W \div T = 16.7 \times \frac{A_{\text{测定管}}}{A_{\text{标准管}}} \div W$$

3. 按照细胞数量计算

酶活性定义: 每10⁴个细胞每分钟水解磷脂酰胆碱产生1nmol胆碱所需的酶量为一个酶活力单位。

$$\text{PLD活性 (nmol/min/10}^4\text{cell)} = \frac{A_{\text{测定管}}}{A_{\text{标准管}}} \times C_{\text{标准}} \div \text{细胞数量} \div T = 16.7 \times \frac{A_{\text{测定管}}}{A_{\text{标准管}}} \div \text{细胞数量}$$

4. 按照液体体积计算

酶活性定义: 每毫升血清每分钟水解磷脂酰胆碱产生1nmol胆碱所需的酶量为一个酶活力单位。

$$\text{PLD活性 (nmol/min/mL)} = \frac{A_{\text{测定管}}}{A_{\text{标准管}}} \times C_{\text{标准}} \div T = 16.7 \times \frac{A_{\text{测定管}}}{A_{\text{标准管}}}$$

C标准: 标准品浓度, 500nmol/mL; Cpr: 样本蛋白浓度, mg/mL; W: 样本质量, g/mL; T: 反应时间, 30min。

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磷脂酰胆碱产生1nmol胆碱所需的酶量为一个酶活力单位。

$$\text{PLD活性 (nmol/min/mg prot)} = \frac{A_{\text{测定管}}}{A_{\text{标准管}}} \times C_{\text{标准}} \div C_{\text{pr}} \div T = 16.7 \times \frac{A_{\text{测定管}}}{A_{\text{标准管}}} \div C_{\text{pr}}$$

2. 按照样本质量计算

酶活性定义: 每克组织每分钟水解磷脂酰胆碱产生1nmol胆碱所需的酶量为一个酶活力单位。

$$\text{PLD活性 (nmol/min/g鲜重)} = \frac{A_{\text{测定管}}}{A_{\text{标准管}}} \times C_{\text{标准}} \div W \div T = 16.7 \times \frac{A_{\text{测定管}}}{A_{\text{标准管}}} \div W$$

3. 按照细胞数量计算

酶活性定义: 每10⁴个细胞每分钟水解磷脂酰胆碱产生1nmol胆碱所需的酶量为一个酶活力单位。

$$\text{PLD活性 (nmol/min/10}^4\text{ cell)} = \frac{A_{\text{测定管}}}{A_{\text{标准管}}} \times C_{\text{标准}} \div \text{细胞数量} \div T = 16.7 \times \frac{A_{\text{测定管}}}{A_{\text{标准管}}} \div \text{细胞数量}$$

4. 按照液体体积计算

酶活性定义: 每毫升血清每分钟水解磷脂酰胆碱产生1nmol胆碱所需的酶量为一个酶活力单位。

$$\text{PLD活性 (nmol/min/mL)} = \frac{A_{\text{测定管}}}{A_{\text{标准管}}} \times C_{\text{标准}} \div T = 16.7 \times \frac{A_{\text{测定管}}}{A_{\text{标准管}}}$$

C标准: 标准品浓度, 500nmol/mL; Cpr: 样本蛋白浓度, mg/mL; W: 样本质量, g/mL; T: 反应时间, 30min。

注意事项:

1. 显色完成后, 若有沉淀, 于8000rpm, 25°C离心5min后取上清测定。
2. 吸光值不宜超过1, 否则用试剂一将酶液进行稀释, 并在计算公式中乘以稀释倍数。



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