

磷脂酸磷酸酯酶（PPase）活性测定试剂盒（可见分光光度法）

产品货号：BA2711

产品规格：48样

产品简介：

磷脂酸磷酸酯酶也称为磷酸化酶磷酸酯酶(EC 3.1.3.17, PPase)是磷酸酯酶中的一种，在脂类合成的信号传递中发挥着重要作用，其活性对含油量的提高具有重要意义，可作为育种选择高含油量品种的生化指标。

本试剂盒利用磷脂酸磷酸酯酶(PPase)催化 β -甘油磷酸分解产生无机磷分子，通过定磷试剂测定无机磷增加速率，即可得出磷脂酸磷酸酯酶(PPase)活性大小。

产品内容：

试剂名称	规格	保存要求	备注
提取液	液体60mL×1瓶	2-8℃	
试剂一	液体30mL×1瓶	2-8℃	
试剂二	粉剂mg×1瓶	2-8℃	临用前甩几下使粉末全部落入底部，加入9mL蒸馏水混匀溶解备用。
试剂三	液体20mL×1瓶	2-8℃	
试剂四	A:粉剂mg×1瓶 B:液体6mL×1瓶	2-8℃	临用前在试剂A中加5.8mL的B液，再加74.2mL的蒸馏水，混匀溶解备用。
标准品	粉剂mg×1支	2-8℃	若重新做标曲，则用到该试剂。

【注】：全程需无磷环境；试剂配置最好用新枪头和玻璃移液器等，也可用一次性塑料器皿，避免磷污染。

所需的仪器和用品：

可见分光光度计、1mL玻璃比色皿（光径1cm）、低温离心机、水浴锅或恒温培养箱、可调式移液器、研钵、冰和蒸馏水。

磷脂酸磷酸酯酶(PPase)活性测定：

建议正式实验前选取2个样本做预测定，了解本批样品情况，熟悉实验流程，避免实验样本和试剂浪费！

1、样本制备：

① 组织样本：称取约0.1g组织，加入1mL提取液，进行冰浴匀浆。4℃×12000rpm离心10min，取上清，置冰上待测。

【注】：若增加样本量，可按照组织质量(g):提取液体积(mL)为1:5~10的比例进行提取。

② 液体样本：直接检测；若浑浊，离心后取上清检测。

2、上机检测：

① 可见分光光度计预热30min以上，调节波长到700nm，蒸馏水调零。

② 所有试剂解冻至室温。

③ 依次在EP管孔板中加入：

试剂名称（ μ L）	测定管	对照管
试剂一	300	300
试剂二	75	75



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

样本	75	
35℃孵育30min		
试剂三	150	150
样本		75
混匀，12000rpm，4℃离心5min，上清液待测		

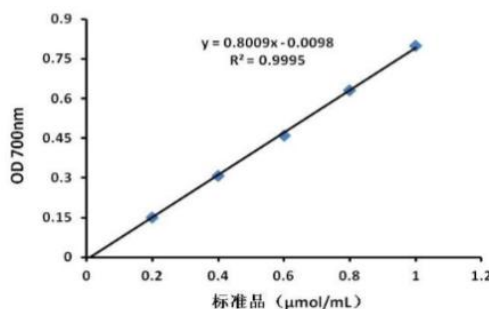
③显色反应，在1mL玻璃比色皿（光径1cm）中加入：

上清液	150	150
试剂四	600	600
混匀，室温静置3min，700nm下读取各管吸光值， $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ （每个样本做一个自身对照）。		

注：若 ΔA 在零附近，可增加样本加样体积 V_1 加样(如增至100 μL ，则试剂一相应减少)或延长反应时间 T (如增至1小时)，则改变后的 V_1 和 T 需代入公式重新计算。

结果计算：

1. 标准曲线方程： $y = 0.8009x - 0.0098$ ， x 是标准品浓度($\mu\text{mol/mL}$)， y 是 ΔA 。



2. 按蛋白浓度计算：

定义：每小时每毫克组织蛋白催化产生1 μmol 无机磷的量为一个酶活力单位。

$$\text{PPase 酶活力}(\mu\text{mol/h/mg prot}) = [(\Delta A + 0.0098) \div 0.8009 \times V_2] \div (V_1 \times \text{Cpr}) \div T$$

$$= 20 \times (\Delta A + 0.0098) \div \text{Cpr}$$

3. 按样本鲜重计算：

定义：每小时每克组织催化产生1 μmol 无机磷的量为一个酶活力单位。

$$\text{PPase 酶活力}(\mu\text{mol/h/g 鲜重}) = [(\Delta A + 0.0098) \div 0.8009 \times V_2] \div (W \times V_1 \div V) \div T$$

$$= 20 \times (\Delta A + 0.0098) \div W$$

4. 液体中PPase活力计算：

定义：每小时每毫升液体催化产生1 μmol 无机磷的量为一个酶活力单位。

$$\text{PPase 酶活力}(\mu\text{mol/h/mL}) = [(\Delta A + 0.0098) \div 0.8009 \times V_2] \div V_1 \div T = 20 \times (\Delta A + 0.0098)$$

V ---提取液体积，1mL； V_1 ---样本体积，0.075mL； V_2 ---酶促反应总体积，0.6mL； W ---样本鲜重，g；

T ---反应时间，1/2小时； Cpr ---样本蛋白质浓度，mg/ml；建议使用本公司的BCA蛋白含量检测试剂盒。

附：标准曲线制作过程：

1. 制备标准品母液(50 $\mu\text{mol/mL}$)：标准品用1mL试剂一溶解。(母液需在两天内用)。
2. 把母液用蒸馏水稀释成六个浓度梯度的标准品：0、0.2、0.4、0.6、0.8、1.0 $\mu\text{mol/mL}$ 。也可根据实际样本来调整标准品浓度。
3. 依据显色反应阶段测定管的加样体系操作，根据结果即可制作标准曲线。



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