

磷脂 (PLIP) (氧化酶法) 含量检测试剂盒 (微板法)

产品货号: BA2710

产品规格: 48样/96样

产品简介:

磷脂在磷脂酶D的作用下水解生成胆碱和磷脂酸,胆碱被胆碱氧化酶氧化生成过氧化氢,过氧化氢与4-氨基安替比林、DAOS反应生成蓝色染料。此染料在600nm有最大吸收峰,吸收强度与样本中磷脂含量成正比。

试剂盒组分或配制:

试剂组分	48样	96样	保存条件	备注
试剂一	液体10mL×1瓶	液体18mL×1瓶	2-8℃, 避光	
试剂二	液体2.5mL×1瓶	液体5mL×1瓶	2-8℃, 避光	
标准管	粉剂1支	粉剂1支	2-8℃, 避光	每支: 1. 临用前8000g 4℃离心2min使试剂落入管底; 2. 加0.2ml蒸馏水, 一周内用完, 配成的浓度见标签。

实验器材:

研钵(匀浆机)、天平、冰盒(制冰机)、台式离心机、可调式移液枪、水浴锅(烘箱、培养箱、金属浴)、96孔板、离心管、酶标仪、蒸馏水(去离子水、超纯水均可)。

指标测定:

建议先选取1-3个差异大的样本(例如不同类型或分组)进行预实验,熟悉操作流程,根据预实验结果确定或调整样本浓度,以防造成样本或试剂不必要的浪费!

1. 样本提取:

① 组织样本:

取约0.1g组织,加入1mL无水乙醇,进行冰浴匀浆。4℃×12000rpm离心5min,取上清,置冰上待测。

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

② 液体样本:澄清的液体可直接检测;若浑浊则离心后取上清液检测。

③ 新鲜血清或肝素抗凝血浆。当样本中抗坏血酸≤50mg/dL、直接胆红素≤40mg/dL、总胆红素≤40mg/dL、溶血≤400mg/dL、乳糜≤1.60%时未观察到明显干扰。

④ 细菌/细胞样本:

先收集细菌或细胞到离心管内,离心后弃上清;取约500万细菌或细胞加入1mL无水乙醇,超声波破碎细菌或细胞(冰浴,功率200W,超声3s,间隔10s,重复30次);12000rpm 4℃离心5min,取上清,置冰上待测。

[注]:若增加样本量,可按照细菌/细胞数量(10^4):无水乙醇(mL)为500~1000:1的比例进行提取。

2. 检测步骤:

① 酶标仪预热30min(等待仪器过自检程序亦可),设定波长到600nm。

② 所有试剂解冻至室温,在96孔板中依次加入:

试剂组分 (μL)	测定管	空白管 (仅做一次)	标准管 (仅做一次)
样本	2		
蒸馏水		2	



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

标准品			2
试剂一	160	160	160
混匀，37°C 孵育 3min 后，于 600nm 处读取 A1。			
试剂二	40	40	40
混匀，37°C 孵育 5min 后，于 600nm 处读取 A2， $\Delta A = A2 - A1$ 。			

【注】：若 ΔA 值小于 0.005，可增加样本加样体积 V1（如由 2 μ L 增至 5 μ L，空白管也由 2 μ L 增至 5 μ L 蒸馏水，标准管仍然为 2 μ L+3 μ L 蒸馏水（总体积同测定管和空白管即 5 μ L）；其他试剂均保持不变），则改变后的 V1 代入公式重新计算。

结果计算：

1. 按组织质量计算：

$$\begin{aligned} \text{磷脂 (PLIP) (mmol/g)} &= (C_{\text{标准}} \times V_2) \times (\Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div (\Delta A_{\text{标准}} - \Delta A_{\text{空}}) \div (V_1 \div V \times W) \times D \\ &= C_{\text{标准}} \times (\Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div (\Delta A_{\text{标准}} - \Delta A_{\text{空}}) \div W \times D \end{aligned}$$

2. 按蛋白浓度计算：

$$\begin{aligned} \text{磷脂 (PLIP) (mmol/mg prot)} &= (C_{\text{标准}} \times V_2) \times (\Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div (\Delta A_{\text{标准}} - \Delta A_{\text{空}}) \div (V_1 \div V \times C_{\text{pr}}) \times D \\ &= C_{\text{标准}} \times (\Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div (\Delta A_{\text{标准}} - \Delta A_{\text{空}}) \div C_{\text{pr}} \times D \end{aligned}$$

3. 按照体积计算：

$$\begin{aligned} \text{磷脂 (PLIP) (mmol/L)} &= (C_{\text{标准}} \times V_2) \times (\Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div (\Delta A_{\text{标准}} - \Delta A_{\text{空}}) \div V_1 \times D \\ &= C_{\text{标准}} \times (\Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div (\Delta A_{\text{标准}} - \Delta A_{\text{空}}) \times D \end{aligned}$$

4. 按细胞数量计算：

$$\begin{aligned} \text{磷脂 (PLIP) (mmol/10}^4\text{cell)} &= (C_{\text{标准}} \times V_2) \times (\Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div (\Delta A_{\text{标准}} - \Delta A_{\text{空}}) \div (500 \times V_1 \div V) \times D \\ &= C_{\text{标准}} \times (\Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div (\Delta A_{\text{标准}} - \Delta A_{\text{空}}) \div 500 \times D \end{aligned}$$

C 标准---标品浓度，见标签；

V1---加入样本体积，0.002mL；

V2---加入标准品体积，0.002mL；

D---稀释倍数，未稀释即为 1。

V---无水乙醇体积，1mL；

W---样本取样质量，g；

500---细菌/细胞数量，万；

Cpr---上清液蛋白浓度，mg/mL，建议使用本公司的 BCA 蛋白含量检测试剂盒。



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