

磷脂酶A2 (PLA2) 检测试剂盒 (分光光度法)

产品货号: BA1797

产品规格: 50管/24样

产品简介:

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。

产品内容:

试剂名称	规格	保存条件
提取液	液体50mL×1瓶	2-8℃
试剂一	液体50mL×1瓶	2-8℃
试剂二	液体50mL×1瓶	2-8℃
试剂三	液体×5瓶	-20℃, 避光

溶液的配制:

1. 试剂三: 临用前根据用量每瓶加入4.5mL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。

需自备的仪器和用品:

天平、超速冷冻离心机、研钵、可见分光光度计、1mL玻璃比色皿。

操作步骤:

一、样本处理

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、测定操作

	对照管	测定管
样品 (μL)	100	100
试剂二 (μL)	900	
试剂三 (μL)		900

充分混匀, 37℃反应10min, 于1mL玻璃比色皿, 蒸馏水调零, 测定412nm处吸光值, 记为A对照管和A测定管, $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}}$ 。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址: 郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话: 400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱: zzlybio@126.com

三、计算公式

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。

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

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。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q：807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com