

磷脂酶D (PLD) 检测试剂盒 (可见分光光度法)

产品货号: BA1200

产品规格: 50管/48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, 具有参与脂脂质代谢、信号转导、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。

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:

提取液: 液体50mL×1瓶, 4℃保存。

试剂一: 液体55mL×1瓶, 4℃避光保存。

试剂二: 液体8mL×1瓶, 4℃避光保存。

试剂三: 粉剂×1瓶, -20℃避光保存。临用前加3mL无水乙醇充分溶解。

试剂四: 液体35mL×1瓶, 4℃避光保存。

标准品: 液体1mL×1支, 4℃避光保存。

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、1mL玻璃比色皿、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℃, 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 (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3s, 间隔7s, 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

试剂名称 (mL)	空白管	标准管	测定管
试剂一	0.1		
试剂二	0.15	0.15	0.15
标准品		0.1	
样品			0.1
试剂三	0.05	0.05	0.05



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

充分混匀，30℃反应30min，沸水浴10min，打开盖子，自然冷却5min。			
试剂四	0.7	0.7	0.7
30℃反应30min，于1mL玻璃比色皿，空白管调零，测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

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 胆碱所需的酶量一个酶活力单位（U）。

$$\text{PLD 活性 (U/mg prot)} = \text{A测定管/A标准管} \times \text{C标准} \div \text{Cpr} \div \text{T} = 0.017 \times (\text{A测定管/A标准管}) \div \text{Cpr}$$

2. 按照样本质量计算

酶活性定义：每毫克蛋白每分钟水解磷脂酰胆碱产生1nmol 胆碱所需的酶量一个酶活力单位（U）。

$$\text{PLD 活性 (U/g)} = \text{A测定管/A标准管} \times \text{C标准} \div \text{W} \div \text{T} = 0.017 \times (\text{A测定管/A标准管}) \div \text{W}$$

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胆碱所需的酶量一个酶活力单位（U）。

$$\text{PLD 活性 (U/10}^4\text{cell)} = \text{A测定管/A标准管} \times \text{C标准} \div \text{细胞数量} \div \text{T} = 0.017 \times (\text{A测定管/A标准管}) \div \text{细胞数量}$$

4. 按照样本质量计算

酶活性定义：每毫升血清每分钟水解磷脂酰胆碱产生1nmol 胆碱所需的酶量一个酶活力单位（U）。

$$\text{PLD 活性 (U/mL)} = \text{A测定管/A标准管} \times \text{C标准} \div \text{T} = 0.017 \times (\text{A测定管/A标准管})$$

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

注意事项：

1. 试剂三置于-20℃保存，临用前配制，配置好的试剂三置于4℃保存不超过7天。
2. 显色完成后，若有沉淀，于8000rpm，25℃离心5min后取上清测定。
3. 吸光值不宜超过 1，否则用试剂一将酶液进行稀释，并在 算公式中乘以稀释倍数。



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