

## 磷脂酶C (PLC) 检测试剂盒 (可见分光光度法)

产品货号: BA1204

产品规格: 50管/48样

### 产品简介:

磷脂酶 C (EC 3.1.4.3) 是一种水解甘油磷酸酯 C3 位点甘油磷酸酯键的脂类水解酶, 广泛存在于微生物及动植物的组织和细胞中, 在细胞代谢、细胞传递、生长发育等方面具有重要作用。

磷脂酶 C 催化水解 NPPC 产生对硝基苯酚, 在 410nm 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 50mL×1 瓶 | 4℃    |
| 试剂一  | 液体 55mL×1 瓶 | 4℃    |
| 试剂二  | 液体 25mL×1 瓶 | 4℃ 避光 |
| 试剂三  | 液体 20mL×1 瓶 | 4℃    |

### 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。

### 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 ( $10^4$  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

|  | 空白管 | 测定管 |
|--|-----|-----|
| 样品 ( $\mu$ L)  |     | 100 |
| 试剂一 ( $\mu$ L)   | 100 |     |
| 试剂二 ( $\mu$ L)   | 500 | 500 |
| 充分混匀, 37℃ 反应 30min   |     |     |
| 试剂三 ( $\mu$ L)   | 400 | 400 |
| 充分混匀, 于 1mL 玻璃比色皿, 蒸馏水调零, 测定 410nm 处吸光值, 分别记为 A 空白管和 A 测定管, $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{空白管}}$ 。 |     |     |

#### 三、酶活计算公式

标准曲线:  $y = 0.0191x - 0.0103$ ,  $R^2 = 0.9991$

(1) 按照蛋白浓度计算

酶活性定义: 每毫克蛋白每分钟水解 NPPC 产生 1nmol 对硝基苯酚所需的酶量为一个酶活力单位。



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

$$\text{PLC活性 (nmol/min/mg prot)} = (\Delta A + 0.0103) \div 0.0191 \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \times C_{\text{pr}}) \div T = 17.45 \times (\Delta A + 0.0103) \div C_{\text{pr}}$$

(2) 按照样本质量计算

酶活性定义：每克组织每分钟水解NPPC产生1nmol对硝基苯酚所需的酶量为一个酶活力单位。

$$\begin{aligned} \text{PLC活性 (nmol/min/g鲜重)} &= (\Delta A + 0.0103) \div 0.0191 \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times W) \div T \\ &= 17.45 \times (\Delta A + 0.0103) \div W \end{aligned}$$

(3) 按照细胞数量计算

酶活性定义：每 $10^4$ 个细胞每分钟水解NPPC产生1nmol对硝基苯酚所需的酶量为一个酶活力单位。

$$\begin{aligned} \text{PLC活性 (nmol/min}/10^4\text{cell)} &= (\Delta A + 0.0103) \div 0.0191 \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times \text{细胞数量}) \div T \\ &= 17.45 \times (\Delta A + 0.0103) \div \text{细胞数量} \end{aligned}$$

(4) 按照液体体积计算

酶活性定义：每毫升血清每分钟水解NPPC产生1nmol对硝基苯酚所需的酶量为一个酶活力单位。

$$\text{PLC活性 (nmol/min/mL)} = (\Delta A + 0.0103) \div 0.0191 \times V_{\text{反总}} \div V_{\text{样}} \div T = 17.45 \times (\Delta A + 0.0103)$$

V反总：反应总体积，1mL；V样：加入样本体积，0.1mL；V样总：加入提取液体积，1mL；Cpr：样本蛋白浓度，mg/mL；W：样本质量，g；T：反应时间，30min。



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

QQ: 807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com