

## 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 $\beta$ -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<br>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（ $\mu$ L） | 测定管 | 对照管 |
|----------------|-----|-----|
| 试剂一            | 300 | 300 |
| 试剂二            | 75  | 75  |
| 样本             | 75  |     |



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

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

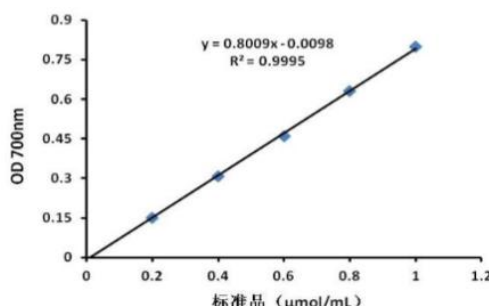
③显色反应，在1mL玻璃比色皿（光径1cm）中加入：

|                                                                                      |     |     |
|--------------------------------------------------------------------------------------|-----|-----|
| 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 $\Delta A$ 在零附近，可增加样本加样体积 $V_1$ 加样(如增至100 $\mu\text{L}$ ，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：

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



- 按蛋白浓度计算：

定义：每小时每毫克组织蛋白催化产生1 $\mu\text{mol}$ 无机磷的量为一个酶活力单位。

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

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

- 按样本鲜重计算：

定义：每小时每克组织催化产生1 $\mu\text{mol}$ 无机磷的量为一个酶活力单位。

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

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

- 液体中PPase活力计算：

定义：每小时每毫升液体催化产生1 $\mu\text{mol}$ 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； $\text{Cpr}$ ---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：

- 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)。
- 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。
- 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

**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