磷酸二酯酶(PDEs)活性测定试剂盒（可见分光光度法）

产品货号：BA2706

产品规格：24样

产品简介：

磷酸二酯酶(phosphodiesterases,PDEs)(EC 3.1.4.1)是一类磷酸水解酶，可以水解环状腺苷酸单磷酸和环状鸟苷酸单磷酸等。

本试剂盒提供一种简单、灵敏、快速的的检测方法。催化底物双(4-硝基苯)磷酯(BNPP)分解生成黄色的产物PNP，该产物在405nm处有最大吸收峰。通过检测PNP在405nm下的增加速率，即可得到磷酸二酯酶(PDES)活性的大小。

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33mL×1瓶	2-8℃	
试剂二	粉剂mg×2支	2-8℃	每支临用前甩几下使粉剂全部落入底部，加入0.7mL蒸馏水混匀溶解，现配现用，一周内用完。
试剂三	液体6mL×1瓶	2-8℃	
标准品	粉剂mg×1支	2-8℃	若重新做标曲，则用到该试剂。

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、可调式移液器、研钵、蒸馏水。

磷酸二酯酶(PDEs)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（水分充足的样本可取0.5g），加入1mL提取液，进行冰浴匀浆。4℃×12000rpm离心15min，取上清作为待测样本。

【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 细菌/细胞样本：

先收集细胞到离心管内，离心后弃上清；取500万细胞加入1mL提取液；超声波破碎细胞(冰浴，功率20%或200W，超声3s，间隔10s，重复30次)；12000rpm、4℃离心10min，取上清液，置冰上待测。

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

③ 液体样本：可直接测定，或者适当稀释后测定。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，设置温度37℃，调节波长至405nm，蒸馏水调零。

② 所有试剂于37℃条件下水浴30min。

③ 在EP管或1mL玻璃比色皿中依次加入下列试剂：

试剂名称（μL）	测定管	对照管	空白管（只做一次）
样本	40	40	40
蒸馏水		40	
试剂一	540	540	540
试剂二	40		40

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

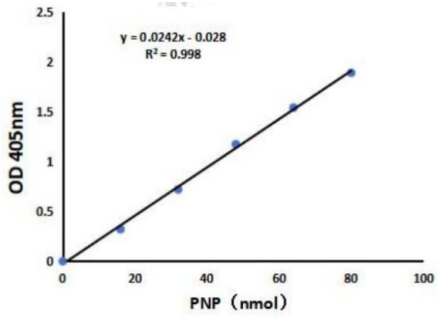
混匀，避光反应，37℃水浴或恒温培养箱孵育20min			
试剂三	100	100	100
混匀，在37℃下静置5min，立即于405nm下读取吸光值A， ΔA=A测定-A对照-A空白。			

【注】：① 若△A的值小于0.01，可增加样本量V1(如增至20μL，则试剂一相应减少)；或延长反应时间T(如增至40min或更长)；或增加取样质量W；则重新调整的V1和T和W须代入公式重新计算。

② 若△A的值超过1，则需要用蒸馏水稀释样本再检测，稀释倍数D代入计算公式。

结果计算：

1. 标准曲线：y=0.0242x+0.028，x是PNP摩尔质量：nmol；y是ΔA。



2. 按照样本质量计算：

   定义：在37℃下，每克组织每分钟水解1nmol的BNPP产生PNP定义为1个酶活单位。

   PDEs(nmol/min/g 鲜重)=[(ΔA+0.028)÷0.0242]÷(W×V1÷V)÷T×D =51.65×(ΔA+0.028)÷W×D

3. 按照样本蛋白浓度计算：

   定义：在37℃下，每毫克蛋白每分钟水解1nmol的BNPP产生PNP定义为1个酶活单位。

   PDEs(nmol/min/mg prot)=[(ΔA+0.028)÷0.0242]÷(Cpr×V1)÷T×D =51.65×(ΔA+0.028)÷Cpr×D

4. 按细菌/细胞数量计算：

   定义：在37℃下，每10^4个细胞每分钟水解1nmol的BNPP产生PNP定义为1个酶活单位。

   PDEs (nmol/min/10^4cell)=[(ΔA+0.028)÷0.0242]÷(500×V1÷V)÷T×D=51.65×(ΔA+0.028)÷500×D

5. 按液体体积计算：

   定义：在37C下，每毫升液体每分钟水解1nmol的BNPP产生PNP定义为1个酶活单位。

   PDEs 活力(nmol/min/mL)=[(ΔA+0.028)÷0.0424]÷V1÷T =51.65×(ΔA+0.028)

   W---样品质量，g；V1---上清液体积(mL)，0.04mL；V---提取液体积，1mL；T---反应时间，20min；

   D---稀释倍数，未稀释即为1；500---细胞数量，万；Cpr---上清液蛋白质浓度，mg/mL；

   建议使用本公司的BCA蛋白质含量测定试剂盒。

附：标准曲线制作过程：

1. 制备标准品母液(20μmol/ml)：向标准品EP管里面加入0.7mL纯乙醇超声溶解，若有结晶析出，需37℃水浴至完全溶解。
2. 把母液稀释成以下浓度梯度的标准品：0、0.4、0.8、12、1.6、2μmol/ml。也可根据实际样本来调整标准品浓度。
3. 依据40μL标准品+540μL试剂一+40μL蒸馏水+100μL试剂三，混匀，在37℃下静置5min后于405nm下读取吸光值A，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