



磷脂酶 C 活性检测试剂盒

PLC Assay Kit

微量法

产品编号：AK486M

产品规格：100T/96S

产品组成及保存条件：

编号	规格	储存条件
ES486	100mL×1 瓶	4℃保存；
AK486-A	102mL×1 瓶	4℃保存；
AK486-B	10mL×1 瓶	4℃避光保存；
AK486-C	8mL×1 瓶	4℃保存；

※ 正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定。

简介：

意义：磷脂酶 C (Phospholipases C, PLC; 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。

原理：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。

自备用品：

可见分光光度计/酶标仪、微量石英比色皿/96 孔板、天平、研钵、超速冷冻离心机、恒温水浴锅。

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 ES486) 加入 ES486，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 AK486-A。
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 ES486)，冰浴超声破碎细胞 (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 AK486-A。
3. 血清：直接测定。

测定步骤：

1. 分光光度计或酶标仪预热 30 min，调节波长到 410nm，蒸馏水调零。
2. 样本测定 (在微量石英比色皿/96 孔板中加入)

试剂名称	空白管 (ul)	测定管 (ul)
样品		20
AK486-A	20	
AK486-B	100	100
充分混匀，37℃反应 30min		
AK486-C	80	80
充分混匀，于微量石英比色皿/96 孔板，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， $\Delta A = A \text{ 测定管} - A \text{ 空白管}$ 。		

PLC 酶活计算公式：

a. 用微量石英比色皿测定的计算公式如下

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。

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

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。

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

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。

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

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。

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

注: $V_{\text{反总}}$: 反应总体积, 0.2mL; $V_{\text{样}}$: 加入样本体积, 0.02mL; $V_{\text{样总}}$: 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。

b. 用 96 孔板测定的计算公式如下

标准曲线: $y = 0.0095x - 0.0103$, $R^2 = 0.9991$

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。

PLC 活性 (nmol/min/mg prot) = $(\Delta A + 0.0103) \div 0.0095 \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \times \text{Cpr}) \div T = 35.09 \times (\Delta A + 0.0103) \div \text{Cpr}$

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。

PLC 活性 (nmol/min /g 鲜重) = $(\Delta A + 0.0103) \div 0.0095 \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} + V_{\text{样总}} \times W) \div T = 35.09 \times (\Delta A + 0.0103) \div W$

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。

PLC 活性 (nmol/min/ 10^4 cell) = $(\Delta A + 0.0103) \div 0.0095 \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} + V_{\text{样总}} \times \text{细胞数量}) \div T$
= $35.09 \times (\Delta A + 0.0103) \div \text{细胞数量}$

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。

PLC 活性 (nmol/min/mL) = $(\Delta A + 0.0103) \div 0.0095 \times V_{\text{反总}} \div V_{\text{样}} \div T = 35.09 \times (\Delta A + 0.0103)$

注: $V_{\text{反总}}$: 反应总体积, 0.2mL; $V_{\text{样}}$: 加入样本体积, 0.02mL; $V_{\text{样总}}$: 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。

※ 蛋白定量检测建议使用本公司: BCA Protein Assay Kit ([C05-02001](#))