



磷脂酶 C 活性检测试剂盒

PLC Assay Kit

分光光度法

产品编号: AK486V

产品规格: 50T/48S

产品组成及保存条件:

编号	规格	储存条件
ES486	50mL×1 瓶	4℃ 保存;
AK486-A	55mL×瓶	4℃ 保存;
AK486-B	25mL×1 瓶	4℃ 避光保存;
AK486-C	20mL×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、1 mL 玻璃比色皿、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 AK486-A。
3. 血清: 直接测定。

测定步骤:

1. 分光光度计预热 30 min, 调节波长到 410nm, 蒸馏水调零。
2. 样本测定 (在 PE 管中加入)

试剂名称	空白管 (ul)	测定管 (ul)
样品		100
AK486-A	100	
AK486-B	500	500
充分混匀, 37℃ 反应 30min		
AK486-C	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, $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{空白管}}$ 。		

PLC 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。

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) = $(\Delta A + 0.0103) \div 0.0191 \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times W) \div T = 17.45 \times (\Delta A + 0.0103) \div W$

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) = $(\Delta A + 0.0103) \div 0.0191 \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times \text{细胞数量}) \div T$
= $17.45 \times (\Delta A + 0.0103) \div \text{细胞数量}$

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, 1mL; $V_{\text{样}}$: 加入样本体积, 0.1mL; $V_{\text{样总}}$: 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](#))