



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℃、100000g 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℃、100000g 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。

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

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。

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

3. 按照细胞数量计算

酶活性定义：每 10⁴ 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。

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

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。

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

注：V 反总：反应总体积，0.2mL；V 样：加入样本体积，0.02mL；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。

b. 用 96 孔板测定的计算公式如下

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

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。

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

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。

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

3. 按照细胞数量计算

酶活性定义：每 10⁴ 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。

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

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。

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

注：V 反总：反应总体积，0.2mL；V 样：加入样本体积，0.02mL；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。

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