



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

- 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。
- 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。
- 血清：直接测定。

测定步骤：

- 分光光度计预热 30 min，调节波长到 410nm，蒸馏水调零。
- 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。

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

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。

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

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。

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

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，1mL；V 样：加入样本体积，0.1mL；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](#))