

## 磷脂酶 C (PLC) 检测试剂盒 (微量法)

货号：PMK1147

保存：-20℃避光保存 6 个月

规格：48T/96T

适用样本：动植物组织、细胞、细菌、血清、血浆、培养液等液体样本

### 产品简介

磷脂酶 C (EC3.1.4.3) 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。本试剂盒提供了一种简单易用的比色法，用于分析各种生物样品中磷脂酶 C 的活性。其原理是磷脂酶 C 催化水解 NPPC 产生对硝基苯酚，在 400nm 处有特征吸收峰。通过测定吸光值升高速率来计算磷脂酶 C 活性。

### 产品内容

试剂盒组分	规格		储存条件
	48T	96T	
提取液	50mL	100mL	4℃保存
试剂一	51mL	102mL	4℃保存
试剂二	6mL	12mL	-20℃避光保存
试剂三	5mL	10mL	4℃保存
标准品	1mL	1mL	4℃保存

### 自备耗材

酶标仪或可见光分光光度计（能测 400nm 处的吸光度）及恒温箱

96 孔板或微量玻璃比色皿、可调节式移液枪及枪头

超速冷冻离心机、制冰机

去离子水

匀浆器（如果是组织样本）

### 试剂准备

提取液：即用型；4℃保存。

试剂一：即用型；使用前，平衡到室温；4℃保存。

试剂二：即用型；使用前，平衡到室温；分装-20℃避光保存。

试剂三：即用型；使用前，平衡到室温；4℃保存。

标准品：标准品为 5mM ( $\mu\text{mol/mL}$ ) 的对硝基苯酚溶液，使用前，平衡到室温；4℃保存。

标准曲线设置：按下表所示，用去离子水将 5  $\mu\text{mol/mL}$  标准品稀释为 1000、500、250、125、62.5、31.25、15.6nmol/mL 标准溶液 的标准溶液。

	标准品体积 ( $\mu\text{L}$ )	去离子水体积 ( $\mu\text{L}$ )	标准品浓度 (nmol/mL)
标准品 1	40 $\mu\text{L}$ of 5 $\mu\text{mol/mL}$	160	1000
标准品 2	100 $\mu\text{L}$ of 标准品 1 (1000nmol/mL)	100	500
标准品 3	100 $\mu\text{L}$ of 标准品 2 (500nmol/mL)	100	250
标准品 4	100 $\mu\text{L}$ of 标准品 3 (250nmol/mL)	100	125

## 产品说明书

标准品 5	100 $\mu$ L of 标准品 4 (125nmol/mL)	100	62.5
标准品 6	100 $\mu$ L of 标准品 5 (62.5nmol/mL)	100	31.25
标准品 7	100 $\mu$ L of 标准品 6 (31.25nmol/mL)	100	15.6

**注意：每次实验，请使用新配制的标准品。**

### 样本制备

动植物组织：称取约 0.1g 样本，加入 1mL 提取液冰浴匀浆，10,000g，4℃离心 5min，取全部上清 100,000g，4℃离心 30min，弃上清，取沉淀溶于 1mL 试剂一。

细胞或细菌：收集 500 万细胞或细菌到离心管内，用冷 PBS 清洗细胞，离心后弃上清，加入 1mL 提取液，超声波破碎细胞或细菌 5min（功率 20%或 200W，超声 3s，间隔 7s，重复 30 次），10,000g，4℃离心 5min，取全部上清 100,000g，4℃离心 30min，弃上清，取沉淀溶于 1mL 试剂一。

血清（浆）或培养液等液体样本：直接测定，根据预实验确定稀释倍数。

**注意：推荐使用新鲜样本，如果不立即进行实验，样本可在-80℃保存 1 个月。如需测定蛋白浓度，推荐使用 Bradford 法蛋白质定量试剂盒进行样本蛋白质浓度测定。**

### 实验步骤

1. 酶标仪或可见分光光度计预热 30min 以上，调节波长到 400nm，可见分光光度计去离子水调零。

2. 样本测定：在 96 孔板或微量玻璃比色皿中依次加入下列试剂

	空白 ( $\mu$ L)	测定 ( $\mu$ L)	标准 ( $\mu$ L)
样本	0	20	0
标准品	0	0	20
试剂一	20	0	0
试剂二	100	100	100
充分混匀，37℃孵育 30min			
试剂三	80	80	80

充分混匀，室温静置 2min 后，400nm 处测定吸光值 A，计算  $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}$ ， $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}$ 。空白和标准曲线只需要测一次。

**注意：1. 实验之前建议选择 2-3 个预期差异大的样本做预实验。如果  $\Delta A_{\text{测}}$  小于 0.005 可适当加大样本量。如果  $\Delta A_{\text{测}}$  大于 1.0 样本可用提取液进一步稀释，计算结果乘以稀释倍数。**

### 结果计算

1. 标准曲线的绘制：

以标准品浓度为 y 轴， $\Delta A_{\text{标准}}$  为 x 轴，绘制标准曲线（浓度为 y 轴更方便计算结果）。将  $\Delta A_{\text{测定}}$  带入方程计算出 y 值 (nmol/mL)。

2. 样本磷脂酶 C 活性计算

(1) 按样本质量计算

单位的定义：每 g 组织在反应体系中每分钟产生 1nmol 对-硝基苯酚定义为一个酶活性单位 U。

磷脂酶 C 活性 (U/g 质量) =  $(y \times V_{\text{反应}}) \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 0.2y \div W$

(2) 按液体样本体积计算

单位的定义：每 mL 液体样本在反应体系中每分钟产生 1nmol 对-硝基苯酚定义为一个酶活性单位 U。

磷脂酶 C 活性 (U/mL) =  $(y \times V_{\text{反应}}) \div V_{\text{样}} \div T = 0.2y$

(3) 按细菌或细胞数量计算

单位的定义：每 1 万个细菌或细胞在反应体系中每分钟产生 1nmol 对-硝基苯酚定义为一个酶活力单位 U。

磷脂酶 C 活性 (U/10<sup>4</sup> cell) =  $(y \times V_{\text{反应}}) \div (500 \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 0.0004y$

(4) 按蛋白浓度计算

单位的定义：每 mg 组织蛋白在反应体系中每分钟产生 1nmol 对-硝基苯酚定义为一个酶活力单位 U。

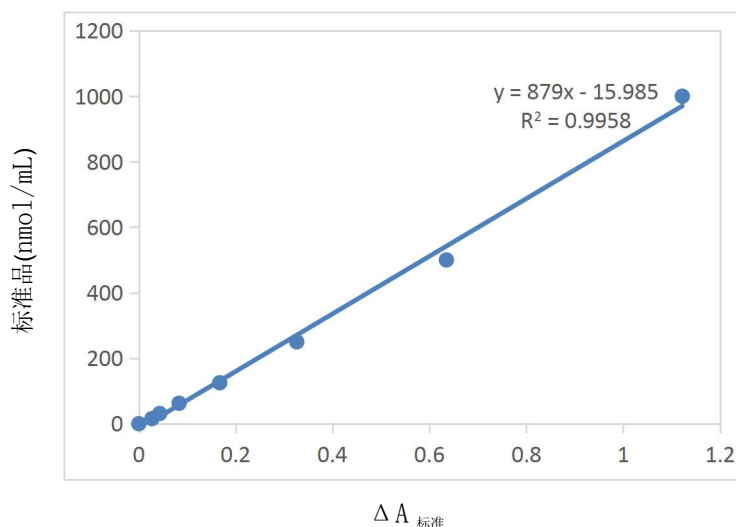
磷脂酶 C 活性 (U/mg prot) =  $(y \times V_{\text{反应}}) \div (Cpr \times V_{\text{样}}) \div T = 0.2y \div Cpr$

$V_{\text{反应}}$ ：反应体系总体积，0.12mL；W：样本质量，g； $V_{\text{样}}$ ：加入样本体积，0.02mL； $V_{\text{样总}}$ ：样本提取后加入试剂一的体积，1mL；T：反应时间，30min；500：细胞或细菌总数，500 万；Cpr：样本蛋白质浓度，mg/mL。

## 产品说明书

### 结果展示

#### 典型标准曲线



### 注意事项

1. 实验过程中请穿戴实验服、口罩和乳胶手套。请按照生物实验室的国家安全规定进行实验，尤其是在检测血样或其他体液时。
2. 本试剂盒仅用于实验室科学研究，如果本试剂盒用于临床诊断或任何其他用途，我们将不对任何后果负责。
3. 本试剂盒应在有效期内使用，并请严格按照说明书进行存储。
4. 不同批次号、不同厂家之间的组分不要混用；否则，可能导致结果异常。
5. 勤换吸头，避免各组分之间的交叉污染。

### 相关产品：

- PMK1142 甘油三酯 (TG) 检测试剂盒 (微量法)
- PMK1143 总胆固醇 (TC) 检测试剂盒 (微量法)
- PMK1144 游离胆固醇 (FC) 检测试剂盒 (微量法)
- PMK1137 游离脂肪酸 (FFA) 检测试剂盒 (微量法)
- PMK1151 血清高密度脂蛋白 (HDL-C) 检测试剂盒 (微量法)
- PMK1152 血清低密度脂蛋白 (LDL-C) 检测试剂盒 (微量法)
- PMK1141 肝脂酶 (HL) 检测试剂盒 (微量法)
- PMK1019 脂肪酸合成酶 (FAS) 检测试剂盒 (微量法)
- PMK1138 脂肪酶 (LPS) 检测试剂盒 (微量法)



更多产品详情了解，请关注公众号：