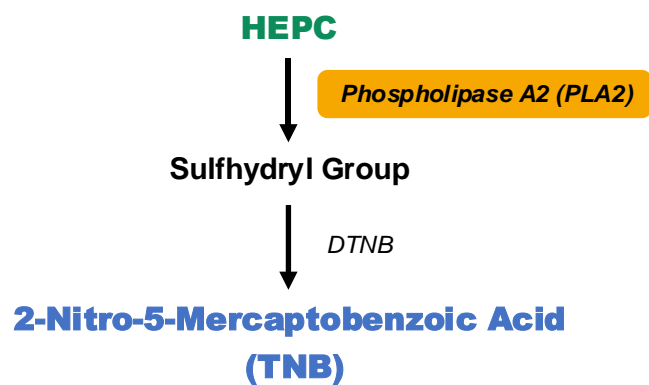




磷脂酶 A2 (PLA2) 活性检测试剂盒

Phospholipase A2 (PLA2) Activity Assay Kit



北京盒子生工科技有限公司
Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.



磷脂酶 A2 (PLA2) 活性检测试剂盒

Phospholipase A2 (PLA2) Activity Assay Kit

一、产品描述

磷脂酶 A2 是磷脂 sn-2 位脂酰基水解酶，广泛存在于动植物组织、细菌、细胞核分泌物中，参与脂肪消化，精子成熟、细胞信号传递、脂质过氧化修复、宿主反应等生理过程，在控制体内磷脂类物质平衡、调节机体新陈代谢、参与疾病的病理进程等方面发挥着及其重要的作用。

磷脂酶 A2 作用于 2-硫代十六酰乙基磷酸胆碱 (HEPC) 产生游离巯基，与 DTNB 反应生成黄色物质，产物在 412 nm 处具有特征吸收峰，通过吸光值的变化即可表征磷脂酶 A2 的活性。

二、产品内容

名称	试剂规格	储存条件	使用方法及注意事项
提取液	液体 50 mL×1 瓶	4°C 保存	-
试剂一	液体 50 mL×1 瓶	4°C 保存	-
试剂二	液体 50 mL×1 瓶	4°C 保存	-
试剂三	液体×5 瓶	-20°C 避光保存	使用前每瓶加入 4.5 mL 试剂二充分混匀 (分装后-20°C 保存，避免反复冻融)

三、产品使用说明

测定过程中所需要的仪器和试剂：可见分光光度计、1 mL 玻璃比色皿（光径 10 mm）、研钵/匀浆器、可调式移液器、台式离心机、超速离心机、恒温水浴/培养箱和蒸馏水。

1. 粗酶液的制备（可根据预实验结果适当调整样本量及比例）

① 细菌或细胞：离心收集细菌或细胞至离心管内，按照细菌或细胞数量 (10^4 个)：提取液体积 (mL) 为 (500-1000)：1 的比例（建议 500 万细菌或细胞加入 1 mL 提取液）处理样品，冰浴超声破碎（功率 300 W，超声 3 s，间隔 7 s，总时间 3 min），4°C 10000 g 离心 5 min，取上清至另一离心管中，4°C 100000 g 离心 30 min，弃上清，留沉淀，加入 1 mL 试剂一充分溶解，即为粗酶液置于冰上待测。

②组织：按照组织质量（g）：提取液体积（mL）为 1：（5-10）的比例（建议称取 0.1 g，加入 1 mL 提取液）处理样品，冰浴匀浆，， 4℃ 10000 g 离心 5 min，取上清至另一离心管中，4℃ 100000 g 离心 30 min，弃上清，留沉淀，加入 1 mL 试剂一充分溶解，即为粗酶液置于冰上待测。

③血清（浆）、培养液等液体样本：直接测定或适当稀释后再进行检测。

2.测定步骤

①分光光度计预热 30 min 以上，调节波长至 412 nm，蒸馏水调零。

②在离心管中依次加入下列试剂：

试剂	测定组 (μL)	对照组 (μL)
粗酶液	100	100
试剂二	-	900
试剂三	900	-
充分混匀，37℃准确反应 10 min		

吸光值测定：测定 412 nm 处吸光值，记为 A 测定和 A 对照；计算 $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ 。注：每个样品均需设一个对照组。

3.磷脂酶 A2 (PLA2) 活性计算

①按组织蛋白浓度计算

单位定义：每 mg 组织蛋白每分钟生成 1 nmol 游离巯基所需的酶量定义为一个酶活力单位。

$$\text{PLA2 (U/mg prot)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}}}{\epsilon \times d \times V_{\text{样}} \times \text{Cpr} \times T} = \frac{73.53 \times \Delta A}{\text{Cpr}}$$

②按组织样本质量计算

单位定义：每 g 组织每分钟生成 1 nmol 游离巯基所需的酶量定义为一个酶活力单位。

$$\text{PLA2 (U/g)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{样总}}}{\epsilon \times d \times V_{\text{样}} \times W \times T} = \frac{73.53 \times \Delta A}{W}$$

③按细菌或细胞数量计算

单位定义：每 10⁴ 细菌或细胞每分钟生成 1 nmol 游离巯基所需的酶量定义为一个酶活力单位。

$$\text{PLA2 (U/10}^4 \text{ cell)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{样总}}}{\epsilon \times d \times V_{\text{样}} \times \text{细菌或细胞数量} \times T} = \frac{73.53 \times \Delta A}{\text{细菌或细胞数量}}$$

④按液体样本体积计算

单位定义：每 mL 液体样本每分钟生成 1 nmol 游离巯基所需的酶量定义为一个酶活力单位。

$$\text{PLA2 (U/mL)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}}}{\epsilon \times d \times V_{\text{样}} \times T} = 73.53 \times \Delta A$$

注释： V 样：反应体系中加入粗酶液的体积，0.1 mL；V 反总：反应总体积，1mL；V 样总：粗酶液总体积，1 mL；TNB 消光系数，13600 L/mol/cm；d：1 mL 玻璃比色皿光径，1 cm；W：样本质量，g；T：反应时间，10 min。

四、注意事项

为保证结果准确且避免试剂损失，测定前请仔细阅读说明书（以实际收到说明书内容为准），确认试剂储存和准备是否充分，操作步骤是否清楚，且务必取 2-3 个预期差异较大的样本进行预测定，过程中问题请您及时与工作人员联系。

