



磷脂酶 C (PLC) 活性检测试剂盒
Phospholipase C (PLC) Activity Assay Kit



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



磷脂酶 C (PLC) 活性检测试剂盒

Phospholipase C (PLC) Activity Assay Kit

一、产品描述

磷脂酶 C (PLC) 广泛存在于微生物及动植物的组织和细胞中，是一种能够水解甘油磷酸酯 C3 位点甘油磷酸酯键的脂类水解酶，在生物生命活动中起着第二信使的作用，作为磷脂酰肌醇信号通路的关键酶，在细胞代谢、细胞传递、生长发育等方面具有重要作用。

磷脂酶 C 能够催化 NPPC 水解生成对硝基苯酚，产物在 410 nm 处具有特征吸收峰，通过吸光值变化即可表征磷脂酶 C 的活性。

二、产品内容

名称	试剂规格	储存条件
提取液	液体 50 mL×1 瓶	4°C 保存
试剂一	液体 55 mL×1 瓶	4°C 保存
试剂二	液体 25 mL×1 瓶	4°C 避光保存
试剂三	液体 20 mL×1 瓶	4°C 保存

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、超速离心管、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，取全部上清至超速离心管中，4°C 100000 g 离心 30 min，弃上清，留沉淀；沉淀中加入 1 mL 试剂一，充分混匀即为粗酶液。

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°C 10000 g 离心 5 min，取全部上清至超速离心管中，4°C 100000 g 离心 30 min，弃上清，留沉淀；沉淀中加入 1 mL 试剂一，充分混匀即为粗酶液。

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 410 nm，蒸馏水调零。

②在离心管中依次加入下列试剂：

试剂	测定管 (μL)	空白管 (μL)
粗酶液	100	-
试剂一	-	100
试剂二	500	500
充分混匀，37°C准确反应 30 min		
试剂三	400	400

吸光值测定：测定 410 nm 处吸光值，记为 A 测定和 A 空白；计算 $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}$ 。注：空白管只需测定 1-2 次。

3.磷脂酶 C (PLC) 活性计算 (标准曲线: $y=0.0194x-0.0092$, $R^2=0.9992$)

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 对硝基苯酚所需的酶量定义为一个酶活力单位。

$$\text{PLC (U/mg prot)} = \frac{(\Delta A + 0.0092) \times V_{\text{反总}}}{0.0194 \times V_{\text{样}} \times \text{Cpr} \times T} = \frac{17.18 \times (\Delta A + 0.0092)}{\text{Cpr}}$$

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 对硝基苯酚所需的酶量定义为一个酶活力单位。

$$\text{PLC (U/g)} = \frac{(\Delta A + 0.0092) \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{样总}}}{0.0194 \times V_{\text{样}} \times W \times T} = \frac{17.18 \times (\Delta A + 0.0092)}{W}$$

③按细菌或细胞数量计算

单位定义：每 10^4 细菌或细胞每分钟生成 1 nmol 对硝基苯酚所需的酶量定义为一个酶活力单位。

$$\text{PLC (U/10}^4 \text{ cell)} = \frac{(\Delta A + 0.0092) \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{样总}}}{0.0194 \times V_{\text{样}} \times \text{细菌或细胞数量} \times T} = \frac{17.18 \times (\Delta A + 0.0092)}{\text{细菌或细胞数量}}$$

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 对硝基苯酚所需的酶量定义为一个酶活力单位。

$$\text{PLC (U/mL)} = \frac{(\Delta A + 0.0092) \times V_{\text{反总}}}{0.0194 \times V_{\text{样}} \times T} = 17.18 \times (\Delta A + 0.0092)$$

注释： V 样：反应体系中加入粗酶液的体积，0.1 mL；V 样总：粗酶液总体积，1 mL；V 反总：反应体系总体积，1 mL；T：反应时间，30 min；Cpr：样本蛋白浓度，mg/mL；W：样本质量，g；细菌或细胞数量：以万计。

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。

boxbio

Manufactured and Distributed by

Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.
Liandong U Valley, Tongzhou District, Beijing, China

TEL: 400-805-8228

E-MAIL: techsupport@boxbio.cn

Copyright © 2020 Boxbio, All Rights Reserved.

