



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 120 mL×1 瓶	4°C 保存
试剂一	液体 100 mL×1 瓶	4°C 保存
试剂二	液体 10 mL×1 瓶	4°C 避光保存
试剂三	液体 8 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/酶标仪、微量玻璃比色皿/96 孔板、研钵/匀浆器、可调式移液器、台式离心机、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 12000 rpm 离心 5 min，取上清置于冰上待测。

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°C 12000 rpm 离心 5 min，取上清置于冰上待测。

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/酶标仪预热 30 min 以上，调节波长至 410 nm，蒸馏水调零。

②在 96 孔板或离心管中依次加入下列试剂：

试剂	测定组 (μL)	空白组 (μL)
粗酶液	20	-
试剂一	-	20
试剂二	100	100
充分混匀，37°C准确反应 30 min		
试剂三	80	80

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：空白组只需测定 1-2 次。

3.磷脂酶 C (PLC) 活性计算

3.1 使用 96 孔板测定的计算公式（标准曲线： $y=0.0097x-0.0092$ ， $R^2=0.9992$ ）

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。

$$\text{PLC (U/mg prot)} = \frac{(\Delta A + 0.0092) \times V_{\text{反总}}}{0.0097 \times V_{\text{样}} \times \text{Cpr} \times T} = \frac{34.36 \times (\Delta A + 0.0092)}{\text{Cpr}}$$

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。

$$\text{PLC (U/g)} = \frac{(\Delta A + 0.0092) \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{样总}}}{0.0097 \times V_{\text{样}} \times W \times T} = \frac{34.36 \times (\Delta A + 0.0092)}{W}$$

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。

$$\text{PLC (U/10}^4 \text{ cell)} = \frac{(\Delta A + 0.0092) \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{样总}}}{0.0097 \times V_{\text{样}} \times \text{细菌或细胞数量} \times T} = \frac{34.36 \times (\Delta A + 0.0092)}{\text{细菌或细胞数量}}$$

④按液体样本体积计算

单位定义：每 mL 液体样本每分钟水解 NPPC 生成 1 nmol 对硝基苯酚所需的酶量定义为一个酶活力单位。

$$\text{PLC (U/mL)} = \frac{(\Delta A + 0.0092) \times V_{\text{反总}}}{0.0097 \times V_{\text{样}} \times T} = 34.36 \times (\Delta A + 0.0092)$$

3.2 使用微量玻璃比色皿测定的计算公式（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 组织蛋白每分钟水解 NPPC 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 组织每分钟水解 NPPC 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 细菌或细胞每分钟水解 NPPC 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 液体样本每分钟水解 NPPC 生成 1 nmol 对硝基苯酚所需的酶量定义为一个酶活力单位。

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

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。

