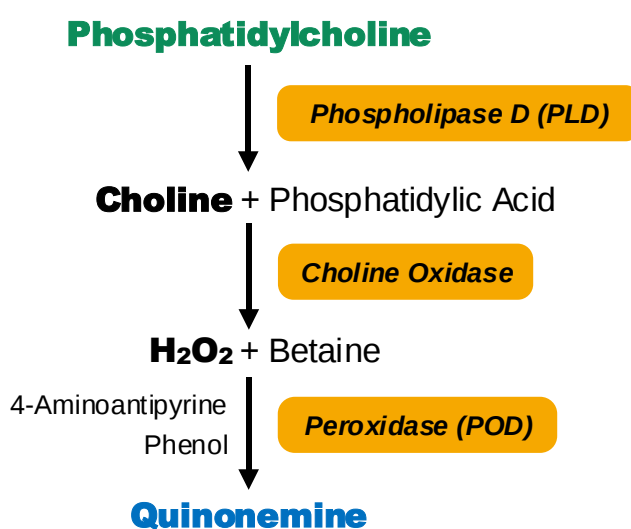




磷脂酶 D (PLD) 活性检测试剂盒
Phospholipase D (PLD) Activity Assay Kit



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



磷脂酶 D (PLD) 活性检测试剂盒

Phospholipase D (PLD) Activity Assay Kit

一、产品描述

磷脂酶 D 即磷脂酰胆碱水解酶，广泛存在于高等动植物和细菌等多种生物体中，是催化磷酸二酯键水解和碱基交换反应的一类酶的总称，具有参与细胞脂质代谢、信号传导、生物膜形成的抗逆境胁迫等生理功能。

磷脂酶 D 能够催化磷脂酰胆碱末端的磷脂酰二酯键水解生成磷脂酸和胆碱，胆碱在胆碱氧化酶催化作用下生成甜菜碱和过氧化氢，过氧化物酶进一步催化过氧化氢氧化 4-氨基安替比林偶联酚，生成红色醌类化合物，产物在 500 nm 处具有特征吸收峰，通过吸光值变化即可表征磷脂酶 D 的活性。

二、产品内容

名称	试剂规格	储存条件	使用说明及注意事项
提取液	液体 100 mL×1 瓶	4°C保存	-
试剂一	液体 100 mL×1 瓶	4°C避光保存	-
试剂二	液体 3 mL×1 瓶	4°C避光保存	-
试剂三	粉剂×1 支	-20°C避光保存	使用前加入 1 mL 无水乙醇充分溶解 (-20°C分装保存，避免反复冻融)
试剂四	液体 15 mL×1 瓶	4°C避光保存	-
标准液	液体 1 mL×1 支	4°C避光保存	-

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、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 12000 g 离心 5 min，取上清 4°C 100000 g 离心 30 min，弃上清，取沉淀加入 1 mL 试剂一充分混匀，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℃ 12000 g 离心 5 min，取上清 4℃ 100000 g 离心 30 min，弃上清，取沉淀加入 1 mL 试剂一充分混匀，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分光光度计或酶标仪预热 30 min 以上，调节波长至 500 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)	标准组 (μL)	空白组 (μL)
粗酶液	20	-	-
标准液	-	20	-
试剂一	-	-	20
试剂二	30	30	30
试剂三	10	10	10
充分混匀，30℃准确反应 30 min			
立即沸水浴处理 1 min，冷却至室温			
试剂四	140	140	140
充分混匀，30℃反应 30 min			

吸光值测定：测定 500 nm 处吸光值，记为 A 测定、A 标准和 A 空白；计算 $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}$ ； $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}$ 。注：空白组只需测定 1-2 次。

3.磷脂酶 D（PLD）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 胆碱所需的酶量定义为一个酶活力单位。

$$\text{PLD (U/mg prot)} = \frac{C_{\text{标}} \times \Delta A_{\text{测定}}}{C_{\text{pr}} \times \Delta A_{\text{标准}} \times T} = \frac{0.017 \times \Delta A_{\text{测定}}}{C_{\text{pr}} \times \Delta A_{\text{标准}}}$$

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 胆碱所需的酶量定义为一个酶活力单位。

$$\text{PLD (U/g)} = \frac{C_{\text{标}} \times \Delta A_{\text{测定}}}{W \times \Delta A_{\text{标准}} \times T} = \frac{0.017 \times \Delta A_{\text{测定}}}{W \times \Delta A_{\text{标准}}}$$

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 胆碱所需的酶量定义为一个酶活力单位。

$$\text{PLD (U/10}^4 \text{ cell)} = \frac{\text{C 标} \times \Delta A \text{ 测定}}{\text{细菌或细胞数量} \times \Delta A \text{ 标准} \times T} = \frac{0.017 \times \Delta A \text{ 测定}}{\text{细菌或细胞数量} \times \Delta A \text{ 标准}}$$

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 胆碱所需的酶量定义为一个酶活力单位。

$$\text{PLD (U/mL)} = \frac{\text{C 标} \times \Delta A \text{ 测定}}{\Delta A \text{ 标准} \times T} = \frac{0.017 \times \Delta A \text{ 测定}}{\Delta A \text{ 标准}}$$

注释：C 标：标准液浓度，500 nmol/L；Cpr：样本蛋白浓度，mg/mL；W：样本质量，g/mL；T：反应时间，30 min。

四、注意事项

- ①比色前若有沉淀析出，10000 g 常温离心 5 min 后取上清测定即可；
- ②若 A 测定大于 1.0，建议将粗酶液使用试剂一适当稀释后再进行测定，计算时相应修改；
- ③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。

For Research Use Only. Not for Use in Diagnostic Procedures.

boxbio

Manufactured and Distributed by

Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.

Liaodong U Valley, Tongzhou District, Beijing, China

TEL: 400-805-8228

E-MAIL: techsupport@boxbio.cn

Copyright © 2020 Boxbio, All Rights Reserved.

