

磷脂酶 A2(PLA2) 活性检测试剂盒 (分光光度计法)
(本试剂盒仅供科研使用)

产品包装

产品编号	产品名称	产品规格
YFX0802	磷脂酶 A2(PLA2) 活性检测试剂盒 (分光光度计法)	50 管/24 样

产品内容

名称	规格	储存条件
提取液	液体 50mL × 1 瓶	4℃
试剂一	液体 50mL × 1 瓶	4℃
试剂二	液体 50mL × 1 瓶	4℃, 避光
试剂三	液体 × 5 瓶: 临用前根据用量, 每瓶加入 4.5mL 试剂二, 充分混匀。用不完的试剂分装后-20℃, 避光储存, 严禁反复冻融。	-20℃, 避光

一、产品说明

磷脂酶 A2 (EC3.1.1.4) 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, 在 412nm 处有特征吸收峰。

二、自备材料

天平, 超速冷冻离心机, 可见分光光度计、研钵、1mL 玻璃比色皿。

三、样品准备

1、组织: 按照组织质量 (g) : 提取液体积 (mL) 为 1: 5~10 的比例 (建议称取约 0.1g 组织, 加入 1mL 提取液), 进行冰浴匀浆, 10000g 4℃ 离心 5min, 取全部上清, 10000g 4℃ 离心 30min, 弃上清, 沉淀溶于 1mL 试剂一。

2、细胞/细菌: 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 1mL 提取液), 冰浴超声波破碎细菌或细胞 (功率 300W, 超声 3s, 间隔 7s, 总时间 3min); 10000g 4℃ 离心 5min, 取全部上清, 10000g 4℃ 离心 30min, 弃上清, 沉淀溶于 1mL 试剂一。

3、血清/血浆样品: 直接检测。

四、操作步骤

正式测定前, 必需取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定。

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

2、在 EP 管中依次加入如下试剂:

名称 (μ L)	对照管	测定管
样本	100	100

试剂二	900	
试剂三		900
充分混匀, 37°C 反应 10min, 于 1mL 玻璃比色皿, 测定 412nm 处吸光值, 记为 A 对照管和 A 测定管, $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}}$ 。		

五、PLA2 活性的计算

1、按照样本蛋白浓度计算:

酶活定义: 每mg蛋白每分钟水解HEPC产生1nmol游离巯基所需的酶量为一个酶活力单位。

$$\text{PLA2 活性 (nmol/min/mg prot)} = \Delta A \div (\varepsilon \times d) \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \times C_{\text{pr}}) \div T$$

$$= 73.53 \times \Delta A \div C_{\text{pr}}$$

2、按照样本鲜重计算:

酶活定义: 每 g 组织每分钟水解 HEPC 产生 1nmol 游离巯基所需的酶量为一个酶活力单位。

$$\text{PLA2 活性 (nmol/min/g 鲜重)} = \Delta A \div (\varepsilon \times d) \times V_{\text{反总}} \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T$$

$$= 73.53 \times \Delta A \div W$$

3、按照细菌/细胞密度计算:

酶活定义: 每 10^4 个细胞每分钟水解 HEPC 产生 1nmol 游离巯基所需的酶量为一个酶活单位。

$$\text{PLA2 活性 (nmol/min/10}^4 \text{ ceLL)} = \Delta A \div (\varepsilon \times d) \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \times \text{细胞数量} \div V_{\text{样总}}) \div T$$

$$= 73.53 \times \Delta A \div \text{细胞数量}$$

4、按照液体体积计算

酶活定义: 每毫升血清每分钟水解HEPC产生 1nmol 游离巯基所需的酶量为一个酶活单位。

$$\text{PLA2 活性 (nmol/min/mL)} = \Delta A \div (\varepsilon \times d) \times V_{\text{反总}} \div V_{\text{样}} \div T = 73.53 \times \Delta A$$

ε : TNB 消光系数, 13600L/mol/cm; d: 比色皿光径, 1cm; $V_{\text{反总}}$: 反应总体积, 1mL;

$V_{\text{样}}$: 反应体系中加入样本体积, 0.1mL; W: 样本质量, g; $V_{\text{样总}}$: 加入提取液体积, 1mL; T: 反应时间, 10min。