



磷脂酶 A2 活性检测试剂盒 PLA2 Assay Kit

微量法

产品编号: AK487M
产品规格: 100T/96S
产品组成及保存条件:

编号	规格	储存条件
ES487	100mL×1 瓶	4℃保存;
AK487-A	100mL×1 瓶	4℃保存;
AK487-B	20mL×1 瓶	4℃避光保存;
AK487-C	液体×5 瓶	-20℃避光保存; 临用前根据用量每瓶加入1.8mL AK487-B充分混匀; 用不完的试剂分装后-20℃保存, 禁止反复冻融。

※ 正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定。

简介:

意义: 磷脂酶 A2 (phospholipase A2, PLA2; 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。

原理: 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。

自备用品:

紫外分光光度计/酶标仪、微量石英比色皿/96 孔板、天平、超速冷冻离心机、研钵。

酶液提取

1. 组织: 按照质量 (g): 提取液体积 (mL) 为 1: 5~10 的比例 (建议称取约 0.1g, 加入 1mL ES487) 加入 ES487, 冰浴匀浆后于 4℃, 10000g 离心 5min, 取全部上清于 4℃、10000g 离心 30min, 弃上清, 取沉淀溶于 1mL AK487-A。
2. 细胞: 按照细胞数量 (10⁴ 个): 提取液体积 (mL) 为 500~1000: 1 的比例 (建议 500 万细胞加入 1mL ES487), 冰浴超声波破碎细胞 (功率 300w, 超声 3 秒, 间隔 7 秒, 总时间 3min); 然后于 4℃, 10000g 离心 5min, 取全部上清于 4℃、10000g 离心 30min, 弃上清, 取沉淀溶于 1mL AK487-A。
3. 血清: 直接测定。

测定步骤:

1. 分光光度计或酶标仪预热 30 min, 调节波长到 412nm, 蒸馏水调零。
2. 样本测定 (在微量石英比色皿/96 孔板中加入)

试剂名称	对照管 (ul)	测定管 (ul)
样品	20	20
AK487- B	180	
AK487-C		180
充分混匀, 37℃反应 10min, 于微量石英比色皿/96 孔板, 蒸馏水调零, 测定 412nm 处吸光值, 记为 A 对照管和 A 测定管, $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}}$		

PLA2 酶活计算公式:

- a. 用微量石英比色皿测定的计算公式如下

1. 按照蛋白浓度计算

酶活性定义：每毫克蛋白每分钟水解 HEPC 产生 1nmol 游离巯基所需的酶量为一个酶活力单位。

$$\text{PLA2 活性 (nmol/min/mg prot)} = \Delta A \div (\epsilon \times d) \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \times \text{Cpr}) \div T = 73.53 \times \Delta A \div \text{Cpr}$$

2. 按照样本质量计算：

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

$$\text{PLA2 活性 (nmol/min/g 鲜重)} = \Delta A \div (\epsilon \times d) \times V_{\text{反总}} \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 73.53 \times \Delta A \div W$$

3. 按照细胞数量计算

酶活性定义：每 10⁴ 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力单位。

$$\text{PLA2 活性 (nmol/min/10}^4 \text{ cell)} = \Delta A \div (\epsilon \times d) \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \times \text{细胞数量} \div V_{\text{样总}}) \div T = 73.53 \times \Delta A \div \text{细胞数量}$$

4. 按照液体体积计算

酶活性定义：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力单位。

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

注：ε：TNB 消光系数，13600L/mol/cm；d：比色皿光径，1cm；V 反总：反应总体积，1mL；V 样：反应体系中加入样本体积，0.1mL；W：样本质量，g；V 样总：加入提取液体积，1mL；T：反应时间，10min。

b. 用 96 孔板测定的计算公式如下

1. 按照蛋白浓度计算：

酶活性定义：每毫克蛋白每分钟水解 HEPC 产生 1nmol 游离巯基所需的酶量为一个酶活力单位。

$$\text{PLA2 活性 (nmol/min/mg prot)} = \Delta A \div (\epsilon \times d) \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \times \text{Cpr}) \div T = 147.06 \times \Delta A \div \text{Cpr}$$

2. 按照样本质量计算：

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

$$\text{PLA2 活性 (nmol/min/g 鲜重)} = \Delta A \div (\epsilon \times d) \times V_{\text{反总}} \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 147.06 \times \Delta A \div W$$

3. 按照细胞数量计算：

酶活性定义：每 10⁴ 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力单位。

$$\text{PLA2 活性 (nmol/min/10}^4 \text{ cell)} = \Delta A \div (\epsilon \times d) \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \times \text{细胞数量} \div V_{\text{样总}}) \div T = 147.06 \times \Delta A \div \text{细胞数量}$$

4. 按照液体体积计算

酶活性定义：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力单位。

$$\text{PLA2 活性 (nmol/min/mL)} = \Delta A \div (\epsilon \times d) \times V_{\text{反总}} \div V_{\text{样}} \div T = 147.06 \times \Delta A$$

注：ε：TNB 消光系数，13600L/mol/cm；d：比色皿光径，0.5cm；V 反总：反应总体积，1mL；V 样：反应体系中加入样本体积，0.1mL；W：样本质量，g；V 样总：加入提取液体积，1mL；T：反应时间，10min

※ 蛋白定量检测建议使用本公司：BCA Protein Assay Kit ([C05-02001](#))