

## 磷脂酶 A2 (phospholipase A2, PLA2) 试剂盒说明书

微量法 100T/48S

正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定

### 测定意义:

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。

### 测定原理:

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。

### 组成:

产品名称	FA030-100T/48S	Storage
提取液: 液体	100ml	4°C
试剂一: 液体	100ml	4°C
试剂二: 液体	20ml	4°C避光
试剂三: 液体	5 瓶	4°C
说明书	一份	

试剂三: 液体×5 瓶, -20°C避光保存。临用前根据用量每瓶加入 1.8ml 试剂二充分混匀; 用不完的试剂分装后-20°C保存, 禁止反复冻融。

### 自备仪器和用品:

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

### 样品处理:

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 提取液) 加入提取液, 冰浴匀浆后于 4°C, 10000g 离心 5min, 取全部上清于 4°C、100000g 离心 30min, 弃上清, 取沉淀溶于 1ml 试剂一。
2. 细胞: 按照细胞数量 (10<sup>4</sup> 个) : 提取液体积 (ml) 为 500~1000: 1 的比例 (建议 500 万细胞加入 1ml 提取液), 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°C, 10000g 离心 5min, 取全部上清于 4°C、100000g 离心 30min, 弃上清, 取沉淀溶于 1ml 试剂一。
3. 血清: 直接测定。
- 4.

最终解释权所有 © 伊势久 (江苏连云港) 生物科技有限责任公司, 保留一切权利



**测定操作:**

	对照管	测定管
样品 (μl)	20	20
试剂二 (μl)	180	
试剂三 (μl)		180
充分混匀, 37°C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, $\Delta A = A$ 测定管 - A 对照管		

**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。

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

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

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。

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

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

3. 细胞数量计算

**酶活性定义:** 每 10<sup>4</sup> 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。

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

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

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。

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

$$= 73.53 \times \Delta A$$

$\varepsilon$ : 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。

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

$$= 147.06 \times \Delta A \div C_{\text{pr}}$$

最终解释权所有 © 伊势久 (江苏连云港) 生物科技有限责任公司, 保留一切权利



## 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。

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

## 3. 细胞数量计算

**酶活性定义：**每 10<sup>4</sup> 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。

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

## 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。

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

$\varepsilon$ : 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

