

磷酸二酯酶(PDEs)活性测定试剂盒（微板法）

产品货号：BA2707

产品规格：48样

产品简介：

磷酸二酯酶(phosphodiesterases,PDEs)(EC 3.1.4.1)是一类磷酸水解酶，可以水解环状腺苷酸单磷酸和环状鸟苷酸单磷酸等。

本试剂盒提供一种简单、灵敏、快速的检测方法。催化底物双(4-硝基苯)磷酸酯(BNPP)分解生成黄色的产物PNP，该产物在405nm处有最大吸收峰。通过检测PNP在405nm下的增加速率，即可得到磷酸二酯酶(PDES)活性的大小。

产品内容：

试剂名称	规格	保存要求	备注
提取液	液体60mL×1瓶	2-8℃	
试剂一	液体20mL×1瓶	2-8℃	
试剂二	粉剂mg×2支	2-8℃	每支临用前甩几下使粉剂全部落入底部，加入0.7mL蒸馏水混匀溶解，现配现用，一周内用完。
试剂三	液体4mL×1瓶	2-8℃	
标准品	粉剂mg×1支	2-8℃	若重新做标曲，则用到该试剂。

所需的仪器和用品：

酶标仪、96孔板、低温离心机、水浴锅、可调式移液器、研钵、蒸馏水。

磷酸二酯酶(PDEs)活性测定：

建议正式实验前选取2个样本做预测定，了解本批样品情况，熟悉实验流程，避免实验样本和试剂浪费！

1. 样本制备：

① 组织样本：

称取约0.1g组织（水分充足的样本可取0.5g），加入1mL提取液，进行冰浴匀浆。4℃×12000rpm离心15min，取上清作为待测样本。

【注】：若增加样本量，可按照组织质量(g):提取液体积(mL)为1:5~10的比例进行提取。

② 细菌/细胞样本：

先收集细胞到离心管内，离心后弃上清；取500万细胞加入1mL提取液；超声波破碎细胞(冰浴，功率20%或200W，超声3s，间隔10s，重复30次)；12000rpm、4℃离心10min，取上清液，置冰上待测。

【注】：若增加样本量，可按照细菌/细胞数量(10^4):提取液(mL)为500~1000:1的比例进行提取。

③ 液体样本：可直接测定，或者适当稀释后测定。若浑浊，离心后取上清检测。

2. 上机检测：

① 酶标仪预热30min以上，设置温度37℃，调节波长至405nm。

② 所有试剂于37℃条件下水浴30min：

③ 在96孔板中依次加入：

试剂名称（ μ L）	测定管	对照管	空白管 （只做一次）
样本	10	10	
蒸馏水		20	10
试剂一	140	140	140



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司

Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话：400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱：saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com

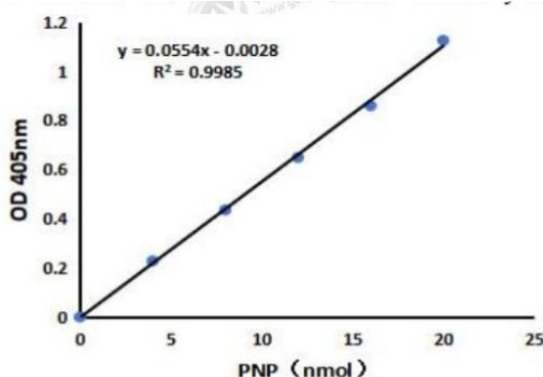
试剂二	20		20
混匀，避光反应，37℃水浴或恒温培养箱孵育20min			
试剂三	30	30	30
混匀，在37℃下静置5min，立即于405nm下读取吸光值A， $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}} - A_{\text{空白}}$ 。			

【注】：① 若 ΔA 的值小于0.01，可增加样本量V1(如增至20 μ L，则试剂一相应减少)；或延长反应时间T(如增至40min或更长)；或增加取样质量W；则重新调整的V1和T和W须代入公式重新计算。

② 若 ΔA 的值超过1，则需要用蒸馏水稀释样本再检测，稀释倍数D代入计算公式。

结果计算：

1. 标准曲线： $y=0.0554x-0.0028$ ，x是PNP摩尔质量：nmol；y是 ΔA 。



2. 按照样本质量计算：

定义：在37℃下，每克组织每分钟水解1nmol的BNPP产生PNP定义为1个酶活单位。

$$\text{PDEs}(\text{nmol}/\text{min}/\text{g 鲜重}) = [(\Delta A + 0.0028) \div 0.0554] \div (W \times V1 \div V) \div T \times D = 90.3 \times (\Delta A + 0.0028) \div W \times D$$

3. 按照样本蛋白浓度计算：

定义：在37℃下，每毫克蛋白每分钟水解1nmol的BNPP产生PNP定义为1个酶活单位。

$$\text{PDEs}(\text{nmol}/\text{min}/\text{mg prot}) = [(\Delta A + 0.0028) \div 0.0554] \div (Cpr \times V1) \div T \times D = 90.3 \times (\Delta A + 0.0028) \div Cpr \times D$$

4. 按细菌/细胞数量计算：

定义：在37℃下，每10⁴个细胞每分钟水解1nmol的BNPP产生PNP定义为1个酶活单位。

$$\text{PDEs}(\text{nmol}/\text{min}/10^4\text{cell}) = [(\Delta A + 0.0028) \div 0.0554] \div (500 \times V1 \div V) \div T \times D = 90.3 \times (\Delta A + 0.0028) \div 500 \times D$$

5. 按液体体积计算：

定义：在37℃下，每毫升液体每分钟水解1nmol的BNPP产生PNP定义为1个酶活单位。

$$\text{PDEs 活力}(\text{nmol}/\text{min}/\text{mL}) = [(\Delta A + 0.0028) \div 0.0554] \div V1 \div T \times D = 90.3 \times (\Delta A + 0.0028) \times D$$

W---样品质量，g；V1---上清液体积(mL)，0.01mL；V---提取液体积，1mL；T---反应时间，20min；

D---稀释倍数，未稀释即为1；500---细胞数量，万；Cpr---上清液蛋白质浓度，mg/mL；建议使用本公司的BCA蛋白质含量测定试剂盒。

附：标准曲线制作过程：

1. 制备标准品母液(20 μ mol/ml)：向标准品EP管里面加入0.7mL纯乙醇超声溶解，若有结晶析出，需37℃水浴至完全溶解。
2. 把母液稀释成以下浓度梯度的标准品：0、0.4、0.8、1.2、1.6、2 μ mol/ml。也可根据实际样本来调整标准品浓度。
3. 依据10 μ L标准品+140 μ L试剂一+20 μ L蒸馏水+30 μ L试剂三，混匀，在37℃下静置35min后于405nm下读取吸光值A，根据结果即可制作标准曲线。



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司

Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话：400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱：saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com