（本试剂盒仅供体外研究使用，不用于临床诊断！）

产品货号：E-BC-K796-M

产品规格：48T(32 samples)/96T(80 samples)

检测仪器：酶标仪(540-560 nm)

Elabscience®磷脂酰胆碱(PC)比色法测试盒

Phosphatidylcholine (PC) Colorimetric Assay Kit

使用前请仔细阅读说明书。如果有任何问题，请通过以下方式联系我们：

电话：400-999-2100
邮箱：biochemical@elabscience.cn
网址：www.elabscience.cn

具体保质期请见试剂盒外包装标签。请在保质期内使用试剂盒。
联系时请提供产品批号(见试剂盒标签)，以便我们更高效地为您服务。

用途

本试剂盒适用于检测血清(浆)、动植物组织及细胞样本中的磷脂酰胆碱(PC)的含量。

检测原理

磷脂酰胆碱(Phosphatidylcholine，PC)是真核细胞膜的重要组成部分，也是第二信使二酰甘油、磷脂酸、溶血磷脂酸和花生四烯酸的主要来源，它们可以进一步代谢为其他信号分子。它广泛存在于各种食物中，特别是在蛋黄、大豆、鱼类、肉类和一些种子中，它也可以通过膳食补充剂来摄取。PC 是细胞膜的主要成分之一，提供结构稳定性和流动性。在肝脏中，PC 参与脂质的合成和运输，有助于维持脂质平衡。作为胆汁的重要成分，PC 促进脂肪的消化和吸收。PC 补充剂被用于预防和治疗脂肪肝、肝硬化等肝脏疾病，并被运动员使用来提高体能和耐力。因此，PC 的检测在医学诊断、疾病管理和健康评估中具有重要的应用价值。

本试剂盒的检测原理：PC 通过酶催化与显色剂生成有颜色的物质，在波长 550 nm 处有最大吸收，通过测定 550 nm 处的 OD 值可以计算样本中磷脂酰胆碱(PC)含量。

提供试剂和物品

编号	名称	规格 1 (Size 1)(48 T)	规格 2 (Size 2)(96 T)	保存方式 (Storage)
试剂一 (Reagent 1)	提取液 (Extraction Solution)	50 mL×1 瓶	50 mL×2 瓶	-20°C 保存 6 个月
试剂二 (Reagent 2)	缓冲液 (Buffer Solution)	25 mL×1 瓶	50 mL×1 瓶	-20°C 保存 6 个月
试剂三 (Reagent 3)	催化剂 (Catalyst)	0.1 mL×1 支	0.2 mL×1 支	-20°C 避光 保存 6 个月
试剂四 (Reagent 4)	酶试剂 (Enzyme Reagent)	粉剂×1 支	粉剂×2 支	-20°C 避光 保存 6 个月
试剂五 (Reagent 5)	显色剂 (Chromogenic Agent)	2.5 mL×1 瓶	5 mL×1 瓶	-20°C 避光 保存 6 个月
试剂六 (Reagent 6)	5 mmol/L 标准品溶液 (5 mmol/L Standard Solution)	0.5 mL×1 支	1 mL×1 支	-20°C 避光 保存 6 个月
	96 孔酶标板	48 孔×1 块	96 孔×1 块	无要求
	96 孔覆膜	2 张		
	样本位置标记表	1 张		

说明：试剂严格按上表中的保存条件保存，不同测试盒中的试剂不能混用。对于体积较少的试剂，使用前请先离心，以免量取不到足够量的试剂。

所需自备物品

仪器：酶标仪(540-560 nm，最佳检测波长 550 nm)、37°C 恒温箱

试剂准备

① 检测前，试剂盒中的试剂平衡至25°C。

② 试剂三工作液的配制：

将试剂一：试剂三按体积比= 99：1配制，现配现用，置于冰上避光待用，当天使用有效。

③ 试剂四工作液的配制：

取一支试剂四加入250 μL双蒸水，溶解混匀，未使用完的试剂可在-20°C避光保存2天。

④ 测定工作液的配制：

将试剂二：试剂四工作液按体积比= 9：1配制，现配现用，置于冰上避光待用，当天使用有效。

⑤ 0.5 mmol/L标准品的配制：

将试剂一：试剂六按体积比= 9：1配制，现配现用，置于冰上避光待用，当天使用有效。

⑥ 不同浓度标准品的稀释：

编号	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧
标准品浓度(mmol/L)	**0**	**0.10**	**0.15**	**0.20**	**0.30**	**0.35**	**0.40**	**0.50**
0.5 mmol/L 标准品(μL)	0	40	60	80	120	140	160	200
试剂一(μL)	200	160	140	120	80	60	40	0

样本准备

① 样本处理

血清(浆)样本：直接测定。

组织样本：按照组织样本质量(g)：试剂一体积(mL)= 1:9的比例匀浆(如0.05 g组织样本，加入0.45 mL试剂一)。4°C，10000 × g离心10 min，取上清待测。

细胞样本：按照约1×10^6个细胞：试剂一体积(mL)= 1:200比例匀浆(如1×10^6个细胞，加入0.2 mL试剂一)。4°C，10000 × g离心10 min，取上清待测。

② 样本的稀释

在正式检测前，需选择2-3个预期差异大的样本稀释成不同浓度进行预实验，根据预实验的结果，结合本试剂盒的线性范围：0.003-0.500 mmol/L，请参考下表稀释(仅供参考)：

样本	稀释倍数	样本	稀释倍数
10%小鼠肝组织	不稀释	1×10^6 个 293T 细胞	不稀释
10%小鼠肾组织	不稀释	1×10^6 个 Hela 细胞	不稀释
10%大鼠肝组织	不稀释	1×10^6 个 Jurkat 细胞	不稀释
10%小鼠脑组织	不稀释	10%小鼠心组织	不稀释
大鼠血清	1-3	小鼠血清	1-3
大鼠血浆	1-3	小鼠血浆	1-3
人血清	1-3	10%女贞叶片组织	不稀释
10%玫瑰花瓣组织	不稀释	10%大蒜组织	不稀释
10%玉米组织	不稀释		

注：稀释液为试剂一。

操作步骤

① 标准孔：取 20 μL 不同浓度的标准品溶液，分别加入相应的酶标孔中。测定孔：取 20 μL 待测样本加入相应的酶标孔中。

② 向步骤①中的各孔加入 50 μL 试剂三工作液。

③ 振板 5 s，37°C 孵育 10 min。

④ 向步骤③中的各孔加入 100 μL 试剂二。

⑤ 向步骤④中的各孔加入 40 μL 测定工作液。

⑥ 向步骤⑤中的各孔加入 40 μL 试剂五。

⑦ 振板 5 s，酶标仪 550 nm 波长下检测各孔 OD 值 A_1。37°C 孵育 30 min 后检测各孔 OD 值 A_2。

操作表

	标准孔	**测定孔**
不同浓度的标准品溶液(μL)	20	--
待测样本(μL)	--	20
试剂三工作液(μL)	50	50
振板 5 s，37°C 孵育 10 min。		
试剂二(μL)	100	100
测定工作液(μL)	40	40
试剂五(μL)	40	40
振板 5 s，酶标仪 550 nm 波长下检测各孔 OD 值 A_1。37°C 孵育 30 min 后检测各孔 OD 值 A_2。		

结果计算

标准品拟合曲线：y = ax + b

血清（浆）中磷脂酰胆碱(PC)含量计算公式：

$$\text{PC 含量 (mmol/L)} = (\Delta A_{550} - b) \div a \times f$$

组织样本中磷脂酰胆碱(PC)含量计算公式：

$$\text{PC 含量 (mmol/kg wet weight)} = (\Delta A_{550} - b) \div a \div \frac{m}{V} \times f$$

细胞样本中磷脂酰胆碱(PC)含量计算公式：

$$\text{PC 含量 (μmol/10^6 个)} = (\Delta A_{550} - b) \div a \div \frac{n}{V} \times f$$

注解：

y：标准品ΔA 值-空白ΔA 值 (标准品浓度为 0 时的ΔA 值，$\Delta A = A_2 - A_1$)

x：标准品的浓度

a：标曲的斜率

b：标曲的截距

ΔA_{550}：样本的变化 OD 值（$\Delta A_{550} = A_2 - A_1$）

f：样本加入检测体系前的稀释倍数

m：组织湿重质量，g

n：细胞样本数量，10^6 个

V：样本匀浆液体积，mL

附录1 关键数据

1. 技术参数

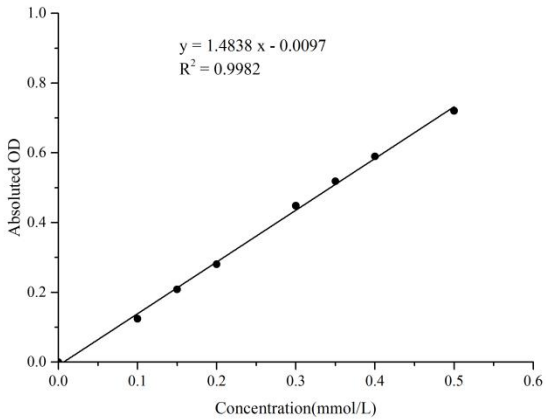
检测范围	0.003-0.500 mmol/L	**批间差**	2.7-9.9%
灵敏度	0.003 mmol/L	**批内差**	2.0-2.1%
加标回收率	94-95%		

2. 标准曲线(数据仅供参考)

① 不同浓度标准品加样量20 μL，按照操作步骤进行实验，OD值如下表所示：

标准品浓度 (mmol/L)	**0**	**0.10**	**0.15**	**0.20**	**0.30**	**0.35**	**0.40**	**0.50**
A_1	0.041	0.049	0.059	0.071	0.090	0.099	0.103	0.118
	0.041	0.048	0.057	0.069	0.088	0.095	0.104	0.117
A_2	0.041	0.172	0.267	0.351	0.546	0.621	0.692	0.841
	0.041	0.173	0.266	0.350	0.529	0.610	0.694	0.835
ΔA 值	0.000	0.123	0.208	0.280	0.456	0.522	0.589	0.723
	0.000	0.125	0.209	0.281	0.441	0.515	0.590	0.718
平均ΔA 值	0.000	0.124	0.209	0.281	0.449	0.519	0.590	0.721
绝对ΔA 值	0	0.124	0.209	0.281	0.449	0.519	0.590	0.721

② 绘制标曲(如下图)：



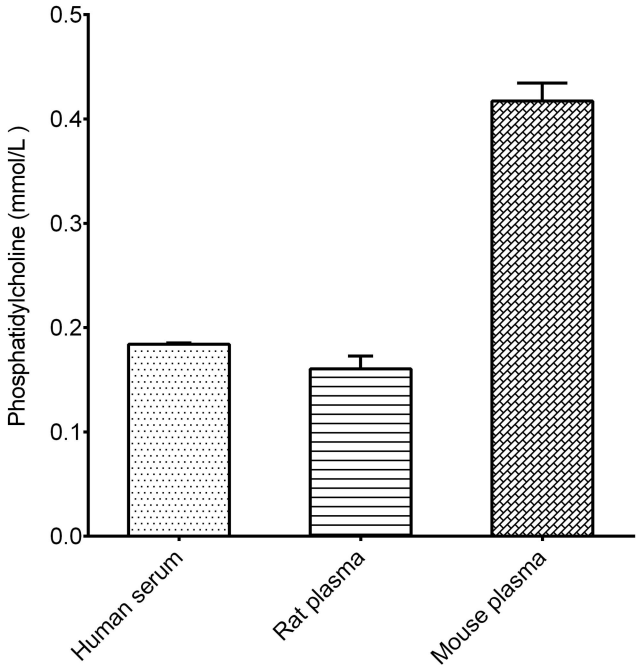
附录2 实例分析

例如人血清(数据仅供参考)：

取20 μL稀释2倍的人血清加入到酶标板孔中，按操作表操作，结果如下：标准曲线为y = 1.4838 x - 0.0097，测定孔A_1值为0.060，A_2值为0.195，$\Delta A_{550} = A_2 - A_1 = 0.195 - 0.060 = 0.135$，计算结果为：

$$\text{PC含量 (mmol/L)} = (0.135 + 0.0097) \div 1.4838 \times 2 = 0.195 \text{ mmol/L}$$

按说明书操作，测定人血清(稀释倍数为2，加样量20 μL)、大鼠血浆(稀释倍数为2，加样量20 μL)、小鼠血浆(稀释倍数为2，加样量20 μL)中的磷脂酰胆碱(PC)含量(如下图)：



声明

1. 试剂盒仅供研究使用，如将其用于临床诊断或任何其他用途，我公司将不对因此产生的问题负责，亦不承担任何法律责任。
2. 实验前请仔细阅读说明书并调整好仪器，严格按照说明书进行实验。
3. 实验中请穿着实验服并戴乳胶手套做好防护工作。
4. 试剂盒检测范围不等同于样本中待测物的浓度范围。如果样品中待测物浓度过高或过低，请对样本做适当的稀释或浓缩。
5. 若所检样本不在说明书所列样本类型之中，建议先做预实验验证其检测有效性。
6. 最终的实验结果与试剂的有效性、实验者的相关操作以及实验环境等因素密切相关。本公司只对试剂盒本身负责，不对因使用试剂盒所造成的样本消耗负责，使用前请充分考虑样本可能的使用量，预留充足的样本。