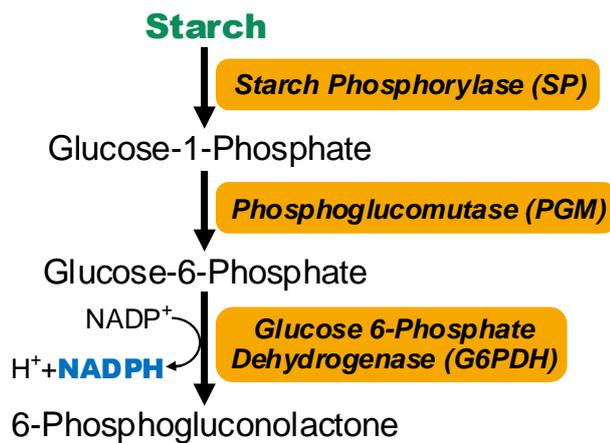




淀粉磷酸化酶 (SP) 活性检测试剂盒
Starch Phosphorylase (SP) Activity Assay Kit



北京盒子生工科技有限公司
Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.



淀粉磷酸化酶 (SP) 活性检测试剂盒

Starch Phosphorylase (SP) Activity Assay Kit

一、产品描述

淀粉磷酸化酶主要参与淀粉代谢过程中的磷酸化反应,能够将无机磷酸与淀粉分子中的羟基结合,形成磷酸酯键从而改变淀粉的结构和性质,并通过可逆反应调控淀粉的合成与分解,在机体中起着重要的能量供应和碳代谢调节作用,对于淀粉代谢调控机制分析、生物能源开发以及农作物品质改良等方面具有重要意义。

淀粉磷酸化酶可催化淀粉中的 α -1,4-糖苷键与无机磷反应产生葡萄糖-1-磷酸,葡萄糖-1-磷酸在磷酸葡萄糖变位酶的作用下产生葡萄糖-6-磷酸,并在 6-磷酸葡萄糖脱氢酶催化下还原 NADP^+ 生成 NADPH , NADPH 在 340 nm 处具有特征吸收峰,通过吸光值变化即可表征淀粉磷酸化酶的活性。

二、产品内容

名称	试剂规格	储存条件	使用说明及注意事项
提取液	液体 100 mL×1 瓶	4°C保存	-
试剂一	液体 20 mL×1 瓶	4°C保存	-
试剂二	粉剂×1 瓶	-20°C保存	使用前加入 1.5 mL 蒸馏水充分溶解 (分装后-20°C可保存一个月,避免反复冻融)
试剂三	粉剂×1 瓶	-20°C保存	使用前加入 1.5 mL 蒸馏水充分溶解 (分装后-20°C可保存一个月,避免反复冻融)

三、产品使用说明

测定过程中所需要的仪器和试剂:酶标仪、96孔UV板、研钵/匀浆器、可调式移液器/多道移液器、台式离心机、恒温水浴/培养箱和蒸馏水。

1.粗酶液的制备(可根据预实验结果适当调整样本量及比例)

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0.1g组织,加入1mL提取液)处理样品,冰浴匀浆,4°C 10000 g离心10 min,取上清置于冰上待测。

②细菌或细胞:离心收集细菌或细胞至离心管内,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500万个细菌或细胞加入1mL提取液)处理样品,冰浴超声破碎(功率300 W,超声3 s,间隔7 s,总时间3 min),4°C 10000 g离心10 min,取上清置于冰上待测。

③血清(浆)、培养液等液体样本:直接检测或适当稀释后再进行检测。

2.测定步骤

①酶标仪预热 30 min 以上，调节波长至 340 nm。

②检测工作液的制备(现用现配): 根据使用量按试剂一: 试剂二: 试剂三=17:1:1 的体积比配制, 配制后半小时内有效。

③在 96 孔 UV 板中依次加入下列试剂:

试剂	测定组 (μL)
粗酶液	10
检测工作液	190

吸光值测定: ①充分混匀并立即开始计时, 测定 1 min (总时间) 时 340 nm 处吸光值, 记为 A1;

②准确反应 5 min, 测定 6 min (总时间) 时 340 nm 处吸光值, 记为 A2; ③计算 $\Delta A=A_2-A_1$ 。

3.淀粉磷酸化酶 (SP) 活性计算

①按组织蛋白浓度计算

单位定义: 每 mg 组织蛋白每分钟生成 1 nmol NADPH 定义为一个酶活力单位。

$$\text{SP (U/mg prot)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times 10^9}{\epsilon \times d \times V_{\text{样}} \times \text{Cpr} \times T} = \frac{1286 \times \Delta A}{\text{Cpr}}$$

②按组织样本质量计算

单位定义: 每 g 组织样本每分钟生成 1 nmol NADPH 定义为一个酶活力单位。

$$\text{SP (U/g)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{样总}} \times 10^9}{\epsilon \times d \times V_{\text{样}} \times W \times T} = \frac{1286 \times \Delta A}{W}$$

③按细菌或细胞数量计算

单位定义: 每 10^4 个细菌或细胞每分钟生成 1 nmol NADPH 定义为一个酶活力单位。

$$\text{SP (U/10}^4 \text{ cell)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{样总}} \times 10^9}{\epsilon \times d \times V_{\text{样}} \times \text{细菌或细胞数量} \times T} = \frac{1286 \times \Delta A}{\text{细菌或细胞数量}}$$

④按液体样本体积计算

单位定义: 每 mL 液体样本每分钟生成 1 nmol NADPH 定义为一个酶活力单位。

$$\text{SP (U/mL)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times 10^9}{\epsilon \times d \times V_{\text{样}} \times T} = 1286 \times \Delta A$$

注释: V 样: 反应体系中加入粗酶液的体积, 0.01 mL; V 样总: 粗酶液总体积, 1 mL; V 反总: 反应体系总体积, 2×10^{-4} L; ϵ : NADPH 摩尔消光系数, 6.22×10^3 L/mol/cm; d: 96 孔 UV 板光径, 0.5 cm; T: 酶促反应时间, 5 min; Cpr: 样本蛋白浓度, mg/mL; W: 样本质量, g; 细菌或细胞数量: 以万计, 10^9 : 单位换算系数, $1 \text{ mol/L} = 10^9 \text{ nmol/L}$ 。

四、注意事项

①准确在相应时间点完成吸光值, 以保证实验结果的准确性和重复性; 若需要同时检测多个样本建议使用多道移液器且分批进行检测, 以确保组间反应时间一致;

②为保证结果准确且避免试剂损失, 测定前请仔细阅读说明书 (以实际收到说明书内容为准), 确认试剂储存和准备是否充分, 操作步骤是否清楚, 且务必取 2-3 个预期差异较大的样本进行预测定, 过程中问题请您及时与工作人员联系。

For Research Use Only. Not for Use in Diagnostic Procedures.

boxbio

Manufactured and Distributed by

Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.
Liandong U Valley, Tongzhou District, Beijing, China

TEL: 400-805-8228

E-MAIL: techsupport@boxbio.cn

Copyright © 2020 Boxbio, All Rights Reserved.

