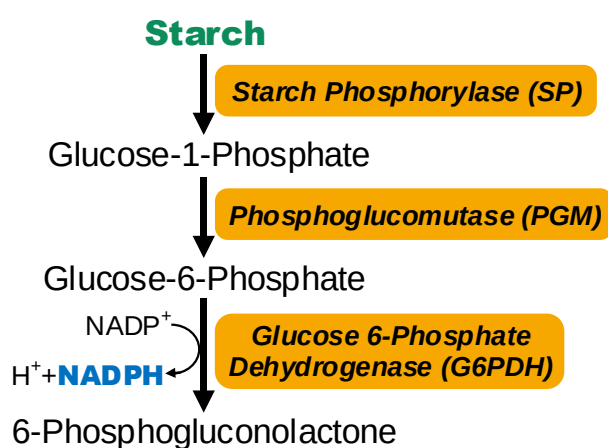




淀粉磷酸化酶 (SP) 活性检测试剂盒

**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  $\alpha$ -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  $\text{NADP}^+$  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 50 mL×1 瓶  | 4°C 保存   | -                                             |
| 试剂二 | 粉剂×1 瓶        | -20°C 保存 | 使用前加入 3 mL 蒸馏水充分溶解<br>(分装后-20°C可保存一个月，避免反复冻融) |
| 试剂三 | 粉剂×1 支        | -20°C 保存 | 使用前加入 3 mL 蒸馏水充分溶解<br>(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：紫外分光光度计、1 mL 石英比色皿（光径 10 mm）、研钵/匀浆器、可调式移液器、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 0.1 g 组织，加入 1 mL 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 1 mL 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紫外分光光度计预热 30 min 以上，调节波长至 340 nm，蒸馏水调零。
- 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。
- ③在 1 mL 石英比色皿中依次加入下列试剂：

| 试剂    | 测定组<br>( $\mu\text{L}$ ) |
|-------|--------------------------|
| 粗酶液   | 50                       |
| 检测工作液 | 950                      |

- 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。

$$\text{SP (U/mg prot)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times 10^9}{\epsilon \times d \times V_{\text{样}} \times \text{Cpr} \times T} = \frac{643 \times \Delta A}{\text{Cpr}}$$

- 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。

$$\text{SP (U/g)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{样总}} \times 10^9}{\epsilon \times d \times V_{\text{样}} \times W \times T} = \frac{643 \times \Delta A}{W}$$

- 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。

$$\text{SP (U/10}^4 \text{ cell)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{样总}} \times 10^9}{\epsilon \times d \times V_{\text{样}} \times \text{细菌或细胞数量} \times T} = \frac{643 \times \Delta A}{\text{细菌或细胞数量}}$$

- 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。

$$\text{SP (U/mL)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times 10^9}{\epsilon \times d \times V_{\text{样}} \times T} = 643 \times \Delta A$$

**注释：** V 样：反应体系中加入粗酶液的体积，0.05 mL；V 样总：粗酶液总体积，1 mL；V 反总：反应体系总体积， $1 \times 10^{-3}$  L； $\epsilon$ ：NADPH 摩尔消光系数， $6.22 \times 10^3$  L/mol/cm；d：1 mL 石英比色皿光径，1.0 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；

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](mailto:techsupport@boxbio.cn)

Copyright © 2020 Boxbio, All Rights Reserved.

