

Starch Phosphorylase Activity Assay Kit

淀粉磷酸化酶活性测定说明书

货号: BN72194 | 方法: 微板法 | 规格: 48 样

一、产品简介:

淀粉磷酸化酶是植物组织中降解淀粉的关键酶之一, 采用无机磷比色法测定淀粉磷酸化酶活性。

二、试剂盒的组成和配制:

试剂名称	规格	保存要求	备注
提取液	提取液 70mL×1 瓶	4℃保存	
试剂一	粉体 mg×4 支	室温保存	临用前甩几下, 使试剂落入底部, 每支加 1.3mL 蒸馏水混合, 煮沸至呈现透明溶解状态, 待冷却后使用, 室温保存即可。
试剂二	粉体 mg×2 支	-20℃保存	临用前甩几下, 使试剂落入底部, 每支再加 2.6mL 蒸馏水混合溶解, 可-20℃分装冻存。
试剂三	液体 10mL×1 瓶	4℃保存	
试剂四	A:粉体 mg×1 瓶 B:液体 2mL×1 瓶	4℃保存	临用前加 1.8mL 的 B 液, 再加 23.2mL 的蒸馏水, 混匀溶解备用。
标准品	粉体 mg×1 支	4℃保存	若重新做标曲, 则用到该试剂。

【注】: 全程操作需无磷环境; 试剂配置最好用新的枪头和玻璃移液器等, 也可以用一次性塑料器皿, 避免磷污染。

三、所需的仪器和用品:

酶标仪、96 孔板、水浴锅、台式离心机、可调式移液器、研钵、冰和蒸馏水。

四、淀粉磷酸化酶活性检测:

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:

称取约 0.1g 组织, 加入 1mL 提取液, 进行冰浴匀浆。 4℃×12000rpm 离心 10min, 取上清, 置冰上待测。

【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、上机检测:

① 酶标仪预热 30min 以上, 调节波长至 700nm

② 所有试剂解冻至室温 (25℃), 或于 25℃水浴中孵育 15min 左右。在 EP 管中依次加入:

试剂名称 (μL)	测定管	对照管
提取液	120	120
试剂一	40	40
样本	100	
试剂二	40	40
混匀, 37℃孵育 20min		

试剂三	100	100
样本		100
混匀, 12000rpm, 4°C离心 5min, 上清液待测。		

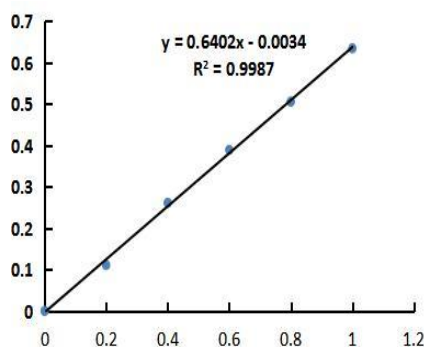
③ 显色反应:

上清液	50	50
试剂四	200	200
混匀, 室温静置 3min, 700nm 下读取各管吸光值, $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ (每个样本做一个自身对照)。		

注意: 本操作流程适用于绝大多数常规样本检测, 实验条件可根据实际样本状态适度微调;
针对特殊类型样本, 我司技术支持可提供专属优化建议。

五、结果计算:

1、标准曲线方程: $y = 0.6402x - 0.0034$, x 是标准品摩尔浓度 ($\mu\text{mol/mL}$), y 是 ΔA 。



标准曲线示意图

说明: 标准曲线由标准品测定获得, 具体制作方法详见随货说明书或咨询技术支持。

2、按蛋白浓度计算:

定义: 每小时每毫克组织蛋白分解 ATP 产生 $1\mu\text{mol}$ 无机磷的量为一个酶活力单位。

$$\text{酶活力}(\mu\text{mol/h/mg prot}) = [(\Delta A + 0.0034) \div 0.6402 \times V2] \div (V1 \times Cpr) \div T$$

$$= 18.74 \times (\Delta A + 0.0034) \div Cpr$$

3、按样本鲜重计算:

定义: 每小时每克组织分解 ATP 产生 $1\mu\text{mol}$ 无机磷的量为一个酶活力单位。

$$\text{酶活力}(\mu\text{mol/h/g 鲜重}) = [(\Delta A + 0.0034) \div 0.6402 \times V2] \div (W \times V1 \div V) \div T = 18.74 \times (\Delta A + 0.0034) \div W$$

V---加入提取液体积, 1mL;

V1---加入样本体积, 0.1mL ;

V2---酶促反应总体积, 0.4mL;

T---反应时间, 1/3 小时;

W---样本鲜重, g;

Cpr---样本蛋白质浓度, mg/mL; 建议使用本公司的 BCA 蛋白含量检测试剂盒。