



淀粉磷酸化酶试剂盒

可见分光光度法

货号: R43944-24S

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。

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50mL×1瓶	4℃保存	
试剂一	粉体mg×1支	室温保存	临用前甩几下, 使试剂落入底部, 每支加5.5mL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1.6mL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3mL×1瓶	4℃保存	临用前加2.9mL的B液, 再加37.1mL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。

所需的仪器和用品:

可见分光光度计、1mL 玻璃比色皿(光径1cm)、水浴锅、台式离心机、可调式移液器、研钵、冰和蒸馏水。

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可见分光光度计预热30min 以上, 调节波长至700nm, 蒸馏水调零。

②所有试剂解冻至室温(25℃),或置于25℃水浴中孵育15min 左右。

③ 在EP 管中依次加入:

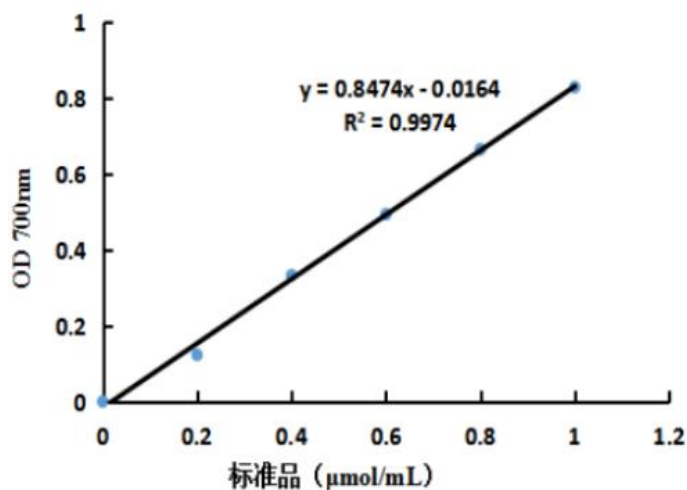
试剂名称(μL)	测定管	对照管
提取液	270	270
试剂一	80	80
样本	150	
试剂二	50	50
混匀, 37℃孵育20min		
试剂三	200	200
样本		150
混匀, 12000rpm, 4℃离心5min, 上清液待测。		

③ 显色反应:

上清液	150	150
试剂四	600	600
混匀, 室温静置3min, 700nm下读取各管吸光值, $\Delta A = A_{测定} - A_{对照}$ (每个样本做一个自身对照)。		

结果计算:

1、标准曲线方程: $y = 0.8474x - 0.0164$, x 是标准品摩尔浓度($\mu\text{mol/mL}$), y 是 ΔA 。



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1μmol 无机磷的量为一个酶活力单位。

$$\begin{aligned}\text{酶活力}(\mu\text{mol/h/mg prot}) &= [(\Delta A + 0.0164) \div 0.8474 \times V2] \div (V1 \times Cpr) \div T \\ &= 17.7 \times (\Delta A + 0.0164) \div Cpr\end{aligned}$$

3、按样本鲜重计算:

定义: 每小时每克组织分解ATP 产生1μmol 无机磷的量为一个酶活力单位。

$$\begin{aligned}\text{酶活力}(\mu\text{molh/g 鲜重}) &= [(\Delta A + 0.0164) \div 0.8474 \times V2] = (W \times V1 \div V) \div T \\ &= 17.7 \times (\Delta A + 0.0164) \div W\end{aligned}$$

V---加入提取液体积, 1mL;

V1---加入样本体积, 0.15mL;

V2---酶促反应总体积, 0.75mL;

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。

附: 标准曲线制作过程:



上海源叶生物科技有限公司
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd
电话: 400-666-5481 传真: 021-55068248
网址: www.shyuanye.com
邮箱: 3008007435@qq.com

1. 制备标准品母液($50\mu\text{mol/mL}$): 标准品用1mL 提取液溶解。(母液需在两天内用)。
2. 把母液用提取液稀释成六个浓度梯度的标准品: 0, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1. $\mu\text{mol/mL}$ 。也可根据实际样本来调整标准品浓度。
3. 依据显色反应阶段测定管的加样体系操作, 根据结果即可制作标准曲线。



源叶