

淀粉磷酸化酶（SP）活性检测试剂盒说明书

产品货号	产品名称	包装规格	测定方法
PYHC5-M48	淀粉磷酸化酶（SP）活性 检测试剂盒	48T	微量法
PYHC5-M96		96T	

一、测定意义：

淀粉磷酸化酶（SP）在淀粉合成与降解中起关键作用，测定其活性，可研究植物、微生物或动物组织中的糖代谢调控机制。酶活性影响淀粉水解效率，可用于优化糖浆、酒精、发酵食品（如啤酒、面包）的生产工艺。淀粉磷酸化酶活性的测定不仅用于基础研究（如代谢调控），还在农业育种、食品加工、医药开发及生物制造等领域具有重要应用价值。

二、测定原理：

淀粉磷酸化酶催化葡萄糖-1-磷酸（G1P）与淀粉进行可逆反应，在合成方向（高 G1P 浓度），酶催化 G1P 生成淀粉并释放无机磷酸（Pi）。通过测定 Pi 的生成量，可计算酶活性。

三、试剂组成：

试剂名称	试剂装量(48T)	试剂装量(96T)	保存条件
提取液	液体 60mL×1 瓶	液体 110mL×1 瓶	2~8℃保存
试剂一	液体 9mL×1 瓶	液体 18mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂二	粉剂 ×1 瓶	粉体 ×2 瓶	2-8℃保存
试剂二的配制： 用时每瓶粉剂加入蒸馏水 3mL，混匀充分溶解，现用现配。			
试剂三	粉剂 ×1 瓶	粉体 ×2 瓶	-20℃保存
试剂三的配制： 用时每瓶粉剂加入蒸馏水 1.5mL，混匀充分溶解，现用现配。			
试剂四	液体 6mL×1 瓶	液体 12mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂五	粉剂 ×1 瓶	粉体 ×2 瓶	2-8℃保存
试剂五的配制： 用时每瓶粉剂加入蒸馏水 5mL，混匀充分溶解，现用现配。			
试剂六	粉剂 ×1 瓶	粉体 ×2 瓶	2-8℃保存
试剂六的配制： 用时每瓶粉剂加入蒸馏水 5mL，混匀充分溶解，现			

用现配。			
试剂七	液体 5mL×1 瓶	液体 10mL×1 瓶	室温保存
定磷剂的配制： 现用现配，按双蒸水:试剂五:试剂六:试剂七=2:1:1:1 的比例配制，配好的定磷剂应为浅黄色，若无色则试剂失效，若是蓝色则为磷污染。			
标准品 (10μmol/mL)	液体 1mL×1 支	液体 1mL×2 支	2-8℃保存

四、操作步骤：

样本前处理

取一定量植物组织擦净水分及杂质，剪碎后放入研钵，加入液氮，研磨成粉状后转移出来，然后准确称重，按照组织质量（g）：提取液体积（mL）为 1：5~10 的比例（建议称取约 0.1g 组织，加入 1mL 提取液）处理样品，室温研磨至匀浆，4℃ 10000 g 离心 10 min，取上清即为粗酶液，置于冰上待测。

测定步骤

- 1、酶标仪预热 30min 以上，调节波长至 660nm，蒸馏水调零；
- 2、测定前将试剂平衡至常温；
- 3、将 10μmol/mL 标准品用蒸馏水依次稀释至 0、0.5、1、1.5、2、2.5μmol/mL，备用；
- 4、样本测定（在离心管中依次加入下列试剂）：

试剂名称	测定管	对照管
样品（μL）	10	-
试剂一（μL）	130	130
试剂二（μL）	40	40
试剂三（μL）	20	20
30℃孵育 10min		
试剂四（μL）	100	100
样品（μL）	-	10
离心 10min，取上清		

- 5、显色反应（在离心管中依次加入下列试剂）：

试剂名称	测定管	对照管	空白管	标准管
样品 (μL)	20	20	-	-
蒸馏水 (μL)	-	-	20	-
不同浓度标准品 (μL)	-	-	-	20
定磷试剂 (μL)	200	200	200	200
混匀, 45℃孵育 20min, 冷却至室温后, 取 200μL 于 96 孔板中, 蒸馏水调零, 于波长 660nm 测定各管吸光度。分别记为 $A_{\text{空白}}$ 、 $A_{\text{标准}}$ 、 $A_{\text{对照}}$ 、 $A_{\text{测定}}$ 。计算 $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}$, $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ 。 注意: 每个测定管需设一个对照管, 空白管和标准管只需测 1-2 次。				

五、淀粉磷酸化酶 (SP) 活性测定:

1、标准曲线绘制: 以吸光度值为横坐标, 标准品浓度为纵坐标, 绘制标准曲线 $y=kx+b$, x 为吸光度值, y 为标准品浓度 (μmol/mL)。
根据标准曲线, 将 $\Delta A_{\text{测定}}$ 带入公式计算出样本浓度 (y , μmol/mL);

2、按样本蛋白浓度计算

单位定义: 每毫克蛋白每分钟生成 1μg 无机磷为一个酶活力单位。

计算公式: $SP (U/mg \text{ prot}) = y \times V_{\text{反应}} \div (V_{\text{样}} \times C_{\text{pr}}) = y \times C_{\text{pr}} \times 30$

3、按样本质量计算

单位定义: 每克组织每分钟生成 1μg 无机磷为一个酶活力单位。

计算公式: $SP (U/g \text{ 质量}) = y \times V_{\text{反应}} \div (V_{\text{样}} \div W \times V_{\text{样}}) = y \times W \times 30$

$V_{\text{样}}$: 加入提取液体积, 1 mL; $V_{\text{反应}}$: 反应体系总体积, 0.3mL;

$V_{\text{样}}$: 加入样本体积, 0.01mL; C_{pr} : 样本蛋白质浓度, mg/mL;

W : 样本质量, g。

六、注意事项:

- 1、样本测试前请选取 2 个预期差异最大的样本, 稀释成不同浓度进行预试, 以选取最佳取样浓度;
- 2、注意磷污染;
- 3、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。

【厂家信息】

生产企业: 南京陌凡生物科技有限公司

地址: 南京市栖霞区红枫科技园 A6 栋 2 层

【售后微信】



【说明书核准及修改日期】

核准日期: 2025 年 4 月 7 日

修改日期: 2025 年 4 月 7 日