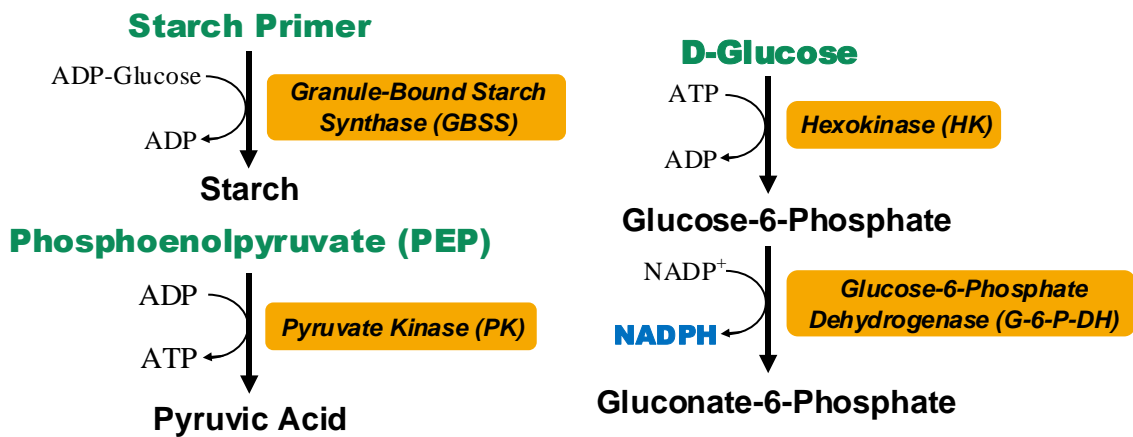




结合态淀粉合成酶 (GBSS) 活性检测试剂盒
Granule-Bound Starch Synthase (GBSS) Activity Assay Kit



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



结合态淀粉合成酶 (GBSS) 活性检测试剂盒

Granule-Bound Starch Synthase (GBSS) Activity Assay Kit

一、产品描述

结合态淀粉合成酶 (GBSS) 是淀粉合成代谢途径中关键酶之一, 主要参与直链淀粉的合成, 在淀粉粒形成一定的晶体结构后开始催化合成, GBSS 活性对直链淀粉和总淀粉积累具有重要调节作用。

结合态淀粉合成酶催化 ADPG 与淀粉引物 (葡聚糖) 反应, 将葡萄糖分子转移到淀粉引物上并生成 ADP, 再通过丙酮酸激酶、己糖激酶和 6-磷酸葡萄糖脱氢酶依次催化 NADP⁺ 还原为 NADPH, NADPH 在 340 nm 处具有特征吸收峰, 通过吸光值变化即可表征结合态淀粉合成酶的活性。

二、产品内容

名称	试剂规格	储存条件	使用方法及注意事项
提取液	液体 110 mL×2 瓶	4°C 保存	-
试剂一	液体 16 mL×1 瓶	4°C 保存	-
试剂二	组分 A	粉剂×2 瓶	使用前取一瓶组分 A 加入 8 mL 试剂一缓慢加热, 逐渐升温使其溶解, 冷却后分别加入 1 支组分 B 和 1 支组分 C 充分溶解 (分装后-20°C 可保存 2 周, 避免反复冻融)
	组分 B	粉剂×2 支	
	组分 C	粉剂×2 支	
试剂三	组分 A	液体 12 mL×1 瓶	使用前取一瓶组分 B 加入 5 mL 组分 A 充分溶解 (分装后-20°C 可保存 4 周, 避免反复冻融)
	组分 B	粉剂×2 瓶	
试剂四	液体 27 μL×1 支	4°C 保存	使用前按照试剂四: 试剂三=1:320 的体积比配制充分混匀即为试剂四应用液 (根据使用量现用现配)
试剂五	组分 A	液体 18 mL×1 瓶	使用前取一瓶组分 B 加入 8 mL 组分 A 充分溶解再加入 1 支组分 C 充分溶解 (分装后-20°C 可保存 4 周, 避免反复冻融)
	组分 B	粉剂×2 瓶	
	组分 C	粉剂×2 支	
试剂六	粉剂×3 支	-20°C 保存	使用前每支加入 208 μL 蒸馏水充分溶解 (分装后-20°C 可保存 2 周, 避免反复冻融)
试剂七	粉剂×1 支	-20°C 保存	使用前加入 2 mL 蒸馏水充分溶解 (分装后-20°C 可保存 2 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/酶标仪、微量石英比色皿（光径 10 mm）/96 孔 UV 板、研钵/匀浆器、台式离心机、可调式移液器/多道移液器、恒温水浴和蒸馏水。

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）

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℃ 10000 g 离心 10 min，弃上清，留沉淀；沉淀中加入 1 mL 提取液充分混匀，置于冰上待测。

2. 测定步骤

① 紫外分光光度计或酶标仪预热 30 min 以上，调节波长至 340 nm，蒸馏水调零。

② 在离心管中依次加入下列试剂：

试剂	测定组 (μL)
粗酶液	100
试剂二	135
① 充分混匀，30℃ 准确反应 20 min；	
② 立即沸水浴处理 1 min，冰浴冷却至室温；	
试剂四应用液	75
① 充分混匀，30℃ 准确反应 30 min；	
② 沸水浴处理 1 min，冰浴冷却至室温；	
③ 10000 g 常温离心 10 min，取上清液；	
上清液	150
试剂五	100
试剂六	5
试剂七	5

吸光值测定：充分混匀后立即吸取 200 μL 反应液至 96 孔 UV 板或微量石英比色皿中，测定 340 nm 处初始吸光值记为 A1 和 2 min 后吸光值记为 A2；计算 $\Delta A = A2 - A1$ 。

3. 结合态淀粉合成酶（GBSS）活性计算

3.1 使用 96 孔 UV 板测定的计算公式

① 按样本蛋白浓度计算

单位定义：每 mg 组织蛋白每分钟催化生成 1 nmol NADPH 定义为一个酶活性单位。

$$\text{GBSS (U/mg prot)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{测}} \times V_{\text{反总}}}{\epsilon \times d_1 \times \text{Cpr} \times V_{\text{样}} \times V_{\text{上清}} \times T} = \frac{86.4 \times \Delta A}{\text{Cpr}}$$

Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.

Not for further distribution without written consent. Copyright © 2020 Boxbio, All Rights Reserved.

②按样本质量计算

单位定义：每 g 组织每分钟催化生成 1 nmol NADPH 定义为一个酶活性单位。

$$\text{GBSS (U/g)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{测}} \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{提}}}{\epsilon \times d_1 \times W \times V_{\text{样}} \times V_{\text{上清}} \times T} = \frac{86.4 \times \Delta A}{W}$$

3.2 使用微量石英比色皿测定的计算公式

①按样本蛋白浓度计算

单位定义：每 mg 组织蛋白每分钟催化生成 1 nmol NADPH 定义为一个酶活性单位。

$$\text{GBSS (U/mg prot)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{测}} \times V_{\text{反总}}}{\epsilon \times d \times \text{Cpr} \times V_{\text{样}} \times V_{\text{上清}} \times T} = \frac{43.2 \times \Delta A}{\text{Cpr}}$$

②按样本质量计算

单位定义：每 g 组织每分钟催化生成 1 nmol NADPH 定义为一个酶活性单位。

$$\text{GBSS (U/g)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{测}} \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{提}}}{\epsilon \times d \times W \times V_{\text{样}} \times V_{\text{上清}} \times T} = \frac{43.2 \times \Delta A}{W}$$

注释： V 样：加入待测样本体积，0.1 mL；V 提：加入提取液的体积，1 mL；V 反总：反应体系总体积，0.31 mL；V 上清：加入上清液体积，0.15 mL；V 测：测量体积，0.26 mL； ϵ ：NADPH 摩尔消光系数， 6.22×10^3 mL/nmol/cm； d_1 ：96 孔 UV 板光径，0.5 cm； d_2 ：微量石英比色皿光径，1.0 cm；T：反应时间，20 min；Cpr：样本蛋白浓度，mg/mL；W：样本质量，g。

四、注意事项

①准确在规定时间点完成吸光值测定，以确保实验结果的准确性和重复性；若使用 96 孔 UV 板测定应使用多道移液器且分批进行测定，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.

