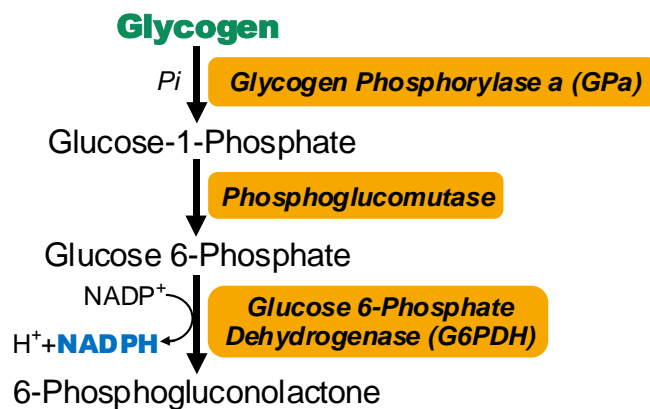




糖原磷酸化酶 a (GP_a) 活性检测试剂盒

Glycogen Phosphorylase a (GP_a) Activity Assay Kit



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



糖原磷酸化酶 a (GPa) 活性检测试剂盒

Glycogen Phosphorylase a (GPa) Activity Assay Kit

一、产品描述

糖原磷酸化酶 (GP) 是糖原分解代谢的关键酶, 使糖原分子从非还原端逐个断开 α -1,4-糖苷键移去葡萄糖基, 释放 1-磷酸葡萄糖, 直至临近糖原分子 α -1,6-糖苷键分支点前 4 个葡萄糖基处, 糖原磷酸化酶分为有活性的糖原磷酸化酶 a (GPa) 和无活性的糖原磷酸化酶 b (GPb) 两种形式, 糖原的分解主要在 GPa 的催化下进行。

糖原磷酸化酶 a 催化糖原和无机磷产生葡萄糖残基和 1-磷酸葡萄糖, 磷酸葡萄糖变位酶和 6-磷酸葡萄糖脱氢酶进一步依次催化 NADP 还原生成 NADPH, NADPH 在 340 nm 处具有特征吸收峰, 通过吸光值的变化率即可表征糖原磷酸化酶 a 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		粉剂×1 支	-20°C 避光保存	使用前加入 1 mL 蒸馏水充分溶解 (分装后-20°C 保存, 避免反复冻融)
试剂二		粉剂×1 支	-20°C 避光保存	使用前加入 1 mL 蒸馏水充分溶解 (分装后-20°C 保存, 避免反复冻融)
试剂三	组分 A	液体 16 mL×1 瓶	4°C 保存	将组分 B 加入组分 A 中充分溶解 (分装后-20°C 保存, 避免反复冻融)
	组分 B	粉剂×1 瓶	-20°C 避光保存	

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、可调式移液器/多道移液器、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和比例)

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°C 10000 g 离心 10 min, 取上清即为粗酶液, 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 试验前将试剂一、试剂二和试剂三 37°C 预热 5 min。
- ③ 在 96 孔 UV 板或微量石英比色皿中依次加入下列试剂：

试剂	测定组 (μL)
粗酶液	10
试剂一	10
试剂二	10
蒸馏水	10
试剂三	160

吸光值测定：①充分混匀并立即开始计时，测定 5 min 时 340 nm 处吸光值，记为 A1；②测定 10 min 时 340 nm 处吸光值，记为 A2；③计算 $\Delta A = A2 - A1$ 。

3. 糖原磷酸化酶 a (GPa) 活性计算

3.1 使用 96 孔 UV 板测定的计算公式

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。

$$\text{GPa (U/mg prot)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times 10^6}{\epsilon \times d_1 \times C_{\text{pr}} \times V_{\text{样}} \times T} = \frac{1286 \times \Delta A}{C_{\text{pr}}}$$

② 按组织样本质量计算

单位定义：每 g 组织每分钟生成 1 nmol NADPH 定义为一个酶活力单位。

$$\text{GPa (U/g)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{样总}} \times 10^6}{\epsilon \times d_1 \times W \times V_{\text{样}} \times T} = \frac{1286 \times \Delta A}{W}$$

注释： V 样：反应体系中加入粗酶液的体积，0.01 mL；V 样总：粗酶液总体积，1 mL；V 反总：反应体系总体积，0.2 mL； ϵ ：NADPH 摩尔消光系数， 6.22×10^3 L/mol/cm； d_1 ：96 孔 UV 板光径，0.5 cm；Cpr：样本蛋白浓度，mg/mL；W：样本质量，g；T：反应时间，5 min。

3.2 使用微量石英比色皿测定的计算公式

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。

$$\text{GPa (U/mg prot)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times 10^6}{\varepsilon \times d_2 \times \text{Cpr} \times V_{\text{样}} \times T} = \frac{643 \times \Delta A}{\text{Cpr}}$$

②按组织样本质量计算

单位定义：每 g 组织每分钟生成 1 nmol NADPH 定义为一个酶活力单位。

$$\text{GPa (U/g)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{样总}} \times 10^6}{\varepsilon \times d_2 \times W \times V_{\text{样}} \times T} = \frac{643 \times \Delta A}{W}$$

注释： V 样：反应体系中加入粗酶液的体积，0.01 mL；V 样总：粗酶液总体积，1 mL；V 反总：反应体系总体积，0.2 mL； ε ：NADPH 摩尔消光系数， 6.22×10^3 L/mol/cm； d_2 ：微量石英比色皿光径，1 cm；Cpr：样本蛋白浓度，mg/mL；W：样本质量，g；T：反应时间，5 min。

四、注意事项

①准确在 5 min 和 10 min 处完成吸光值测定，以确保实验结果的准确性和重复性；若使用 96 孔 UV 板进行测定，建议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.

