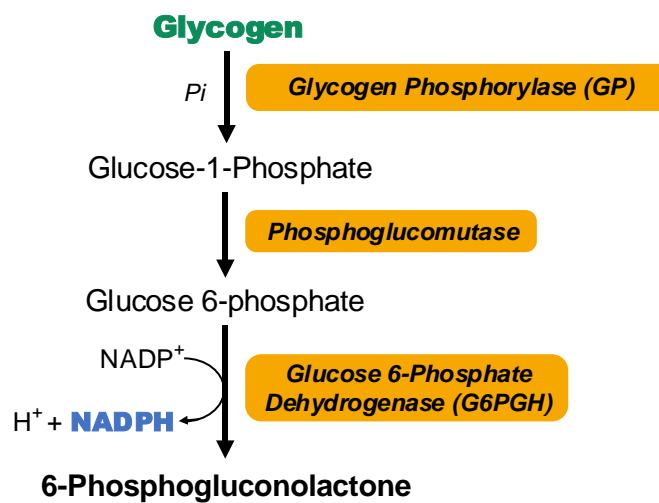




糖原磷酸化酶 b (GPb) 活性检测试剂盒  
Glycogen Phosphorylase b (GPb) Activity Assay Kit



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



## 糖原磷酸化酶 b (GPb) 活性检测试剂盒

### Glycogen Phosphorylase b (GPb) 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  $\alpha$ -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  $\alpha$ -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, GPb 在一定浓度的腺苷酸 (5'-AMP) 存在下可被激活。

GP 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 GP 总活性, 添加一定浓度的腺苷酸 (5'-AMP) 时测定 GP (GPa+GPb) 总活性, 未添加腺苷酸 (5'-AMP) 时测定 GPa 活性, 通过差值计算即可获得 GPb 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	粉剂×1 支	-20°C 避光保存	使用前加入 0.5 mL 蒸馏水充分溶解 (分装后-20°C 保存, 避免反复冻融)
试剂四	组分 A	液体 16 mL×1 瓶	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	

#### 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、试剂三和试剂四 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 1 ( $\mu\text{L}$ )	测定组 2 ( $\mu\text{L}$ )
粗酶液	10	10
试剂一	10	10
试剂二	10	10
蒸馏水	10	-
试剂三	-	10
试剂四	160	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 A 测定 1 和 A 测定 2；②测定 10 min 时 340 nm 处吸光值，记为 B 测定 1 和 B 测定 2；③计算  $\Delta\text{AGPa} = \text{B 测定 1} - \text{A 测定 1}$ ， $\Delta\text{AGP} = \text{B 测定 2} - \text{A 测定 2}$ 。

## 3.糖原磷酸化酶 b (GPb) 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 NADH 定义为一个酶活力单位。

$$\text{GPb (U/mg prot)} = \frac{(\Delta\text{AGP} - \Delta\text{AGPa}) \times V_{\text{反总}} \times 10^6}{\epsilon \times d_1 \times \text{Cpr} \times V_{\text{样}} \times T} = \frac{1286 \times (\Delta\text{AGP} - \Delta\text{AGPa})}{\text{Cpr}}$$

- 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 NADH 定义为一个酶活力单位。

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

**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； $\epsilon$ ：NADH 摩尔消光系数， $6.22 \times 10^3 \text{ L/mol/cm}$ ； $d_1$ ：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 NADH 定义为一个酶活力单位。

$$\text{GPb (U/mg prot)} = \frac{(\Delta\text{AGP}-\Delta\text{AGPa})\times V_{\text{反总}}\times 10^6}{\varepsilon\times d_2\times \text{Cpr}\times V_{\text{样}}\times T} = \frac{1286\times(\Delta\text{AGP}-\Delta\text{AGPa})}{\text{Cpr}}$$

### 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 NADH 定义为一个酶活力单位。

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

**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； $\varepsilon$ ：NADH 摩尔消光系数， $6.22\times 10^3$  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.

