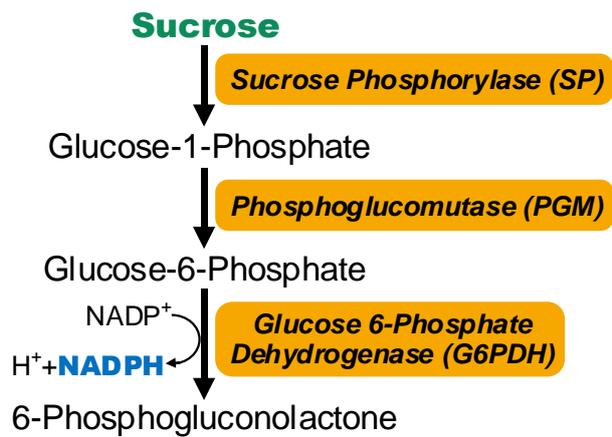




蔗糖磷酸化酶 (SP) 活性检测试剂盒
Sucrose Phosphorylase (SP) Activity Assay Kit



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



蔗糖磷酸化酶 (SP) 活性检测试剂盒

Sucrose Phosphorylase (SP) Activity Assay Kit

一、产品描述

蔗糖磷酸化酶主要参与蔗糖代谢过程中的磷酸化反应，能够催化蔗糖与无机磷酸反应生成蔗糖-6-磷酸，并通过可逆反应调控蔗糖的合成与分解，在机体中起着重要的能量供应和碳代谢调节作用，对于蔗糖代谢调控、碳源利用和生物能源生产等方面具有重要意义。

蔗糖磷酸化酶能够以磷酸为受体，催化蔗糖生成 1-磷酸葡萄糖，在葡萄糖磷酸变位酶催化下变位为 6-磷酸葡萄糖，在 6-磷酸葡萄糖脱氢酶作用下还原 NADP⁺ 生成 NADPH，NADPH 在 340 nm 处具有特征吸收峰，通过吸光值变化即可表征蔗糖磷酸化酶的活性。

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	液体 15 mL×1 瓶	4°C 保存	-
试剂二	粉剂×1 瓶	-20°C 避光保存	使用前加入 2.5 mL 蒸馏水充分溶解 (分装后 -20°C 可保存一个月，避免反复冻融)
试剂三	粉剂×1 瓶	-20°C 避光保存	使用前加入 5 mL 蒸馏水充分溶解 (分装后 -20°C 可保存一个月，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、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及比例）

①组织：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，取上清置于冰上待测。

②细菌或细胞：离心收集细菌或细胞至离心管内，按照细菌或细胞数量 (10⁴ 个)：提取液体积 (mL) 为 (500-1000)：1 的比例（建议 500 万个细菌或细胞加入 1 mL 提取液）处理样品，冰浴超声破碎（功率 300 W，超声 3 s，间隔 7 s，总时间 3 min），4°C 10000 g 离心 10 min，取上清置于冰上待测。

③血清（浆）、培养液等液体样本：直接检测或适当稀释后再进行检测。

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 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)	空白组 (μL)
试剂一	120	120
试剂二	20	20
试剂三	40	40
粗酶液	20	-
蒸馏水	-	20

吸光值测定：①充分混匀并立即开始计时，测定 10 s（总时间）时 340 nm 处吸光值，记为 A1 测定和 A1 空白；②37°C 准确反应 120 s，测定 130 s（总时间）时 340 nm 处吸光值，记为 A2 测定和 A2 空白；③计算 $\Delta A_{\text{测定}} = A2_{\text{测定}} - A1_{\text{测定}}$ ， $\Delta A_{\text{空白}} = A2_{\text{空白}} - A1_{\text{空白}}$ ， $\Delta A = \Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}$ 。注：空白组只需测定 1-2 次。

3. 蔗糖磷酸化酶（SP）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。

$$\text{SP (U/mg prot)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times 10^9}{\epsilon \times d_1 \times V_{\text{样}} \times \text{Cpr} \times T} = \frac{1607.72 \times \Delta A}{\text{Cpr}}$$

- ② 按组织样本质量计算

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

$$\text{SP (U/g)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{样总}} \times 10^9}{\epsilon \times d_1 \times V_{\text{样}} \times W \times T} = \frac{1607.72 \times \Delta A}{W}$$

- ③ 按细菌或细胞数量计算

单位定义：每 10^4 个细菌或细胞每分钟生成 1 nmol NADPH 定义为一个酶活力单位。

$$\text{SP (U/10}^4 \text{ cell)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{样总}} \times 10^9}{\epsilon \times d_1 \times V_{\text{样}} \times \text{细菌或细胞数量} \times T} = \frac{1607.72 \times \Delta A}{\text{细菌或细胞数量}}$$

- ④ 按液体样本体积计算

单位定义：每 mL 液体样本每分钟生成 1 nmol NADPH 定义为一个酶活力单位。

$$\text{SP (U/mL)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times 10^9}{\epsilon \times d_1 \times V_{\text{样}} \times T} = 1607.72 \times \Delta A$$

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。

$$SP \text{ (U/mg prot)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times 10^9}{\epsilon \times d_2 \times V_{\text{样}} \times C_{\text{pr}} \times T} = \frac{803.86 \times \Delta A}{C_{\text{pr}}}$$

②按组织样本质量计算

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

$$SP \text{ (U/g)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{样总}} \times 10^9}{\epsilon \times d_2 \times V_{\text{样}} \times W \times T} = \frac{803.86 \times \Delta A}{W}$$

③按细菌或细胞数量计算

单位定义：每 10^4 个细菌或细胞每分钟生成 1 nmol NADPH 定义为一个酶活力单位。

$$SP \text{ (U/}10^4 \text{ cell)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{样总}} \times 10^9}{\epsilon \times d_2 \times V_{\text{样}} \times \text{细菌或细胞数量} \times T} = \frac{803.86 \times \Delta A}{\text{细菌或细胞数量}}$$

④按液体样本体积计算

单位定义：每 mL 液体样本每分钟生成 1 nmol NADPH 定义为一个酶活力单位。

$$SP \text{ (U/mL)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times 10^9}{\epsilon \times d_2 \times V_{\text{样}} \times T} = 803.86 \times \Delta A$$

注释： V 样：反应体系中加入粗酶液的体积，0.02 mL；V 样总：粗酶液总体积，1 mL；V 反总：反应体系总体积， 2×10^{-4} L； 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； d_2 ：微量石英比色皿光径，1.0 cm；T：酶促反应时间，2 min；Cpr：粗酶液蛋白浓度，mg/mL；W：样本质量，g；细菌或细胞数量：以万计， 10^9 ：单位换算系数，1 mol/L = 10^9 nmol/L。

四、注意事项

①准确在相应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；若使用酶标仪需使用多道移液器且分批进行检测，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.

