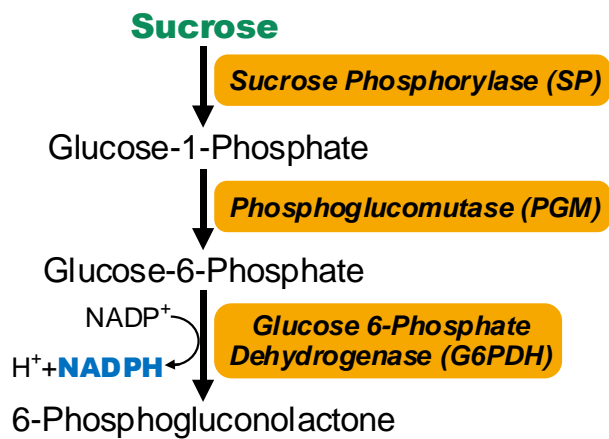




蔗糖磷酸化酶 (SP) 活性检测试剂盒  
Sucrose Phosphorylase (SP) Activity Assay Kit



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<sup>+</sup> 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 50 mL×1 瓶	4°C 保存	-
试剂一	液体 35 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 6 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 12 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、1 mL 石英比色皿（光径 10 mm）、研钵/匀浆器、可调式移液器、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 (10<sup>4</sup> 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紫外分光光度计预热 30 min 以上，调节波长至 340 nm，蒸馏水调零。
- ②在 1 mL 石英比色皿中依次加入下列试剂：

试剂	测定组 ( $\mu\text{L}$ )	空白组 ( $\mu\text{L}$ )
试剂一	600	600
试剂二	100	100
试剂三	200	200
粗酶液	100	-
蒸馏水	-	100

**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

- 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。

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

- 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。

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

- 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。

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

- 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。

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

**注释：** V 样：反应体系中加入粗酶液的体积，0.1 mL；V 样总：粗酶液总体积，1 mL；V 反总：反应体系总体积， $1 \times 10^{-3}$  L； $\epsilon$ ：NADPH 摩尔消光系数， $6.22 \times 10^3$  L/mol/cm；d：1 mL 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， $1 \text{ mol/L} = 10^9 \text{ nmol/L}$ 。

#### 四、注意事项

- ①准确在相应时间点完成吸光值，以保证实验结果的准确性和重复性；
- 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.

