淀粉磷酸化酶活性测定说明书

（货号：G0570W 微板法 48 样）

一、产品简介：

淀粉磷酸化酶是植物组织中降解淀粉的关键酶之一，采用无机磷比色法测定淀粉磷酸化酶活性。

二、所需的仪器和用品：

酶标仪、96 孔板、水浴锅、台式离心机、可调式移液器、研钵、冰和蒸馏水。

三、试剂盒的组成和配制：

试剂名称	规格	保存要求	备注
提取液	提取液 60mL×1 瓶	4℃保存	
试剂一	粉体 mg×1 瓶	4℃保存	临用前甩下使粉体落入底部，再加 6mL 提取液后于 80℃水浴溶解
试剂二	粉体 mg ×1 瓶	-20℃保存	临用前甩下使粉体落入底部，再加 6mL 蒸馏水溶解
试剂三	液体 5mL×1 瓶	4℃保存	
试剂四	A:粉体 mg×1 瓶 B:液体 2mL×1 瓶	4℃保存	临用前加 1.8mL 的 B 液，再加 23.2mL 的蒸馏水，混匀溶解备用。
标准品	粉体 mg×1 支	4℃保存	若重新做标曲，则用到该试剂

【注】：全程操作需无磷环境；试剂配置最好用新的枪头和玻璃移液器等，也可以用一次性塑料器皿，避免磷污染。

四、淀粉磷酸化酶活性检测：

建议正式实验前选取 2 个样本做预测定，了解本批样品情况，熟悉实验流程，避免实验样本和试剂浪费！

1、样本制备：

称取约 0.1g 组织，加入 1mL 提取液，进行冰浴匀浆。 4℃×12000rpm 离心 10min，取上清，置冰上待测。

【注】：若增加样本量，可按照组织质量（g）：提取液体积(mL)为 1：5~10 的比例进行提取。

2、上机检测：

① 酶标仪预热 30min 以上，调节波长至 700nm，所有试剂解冻至室温（25℃）。

② 在 EP 管中依次加入：

试剂名称（μL）	测定管	对照管
试剂一	50	50
样本	50	
试剂二	50	50
混匀，37℃孵育 20min		
试剂三	50	50
样本		50
混匀，12000rpm，4℃离心 5min，上清液待测		

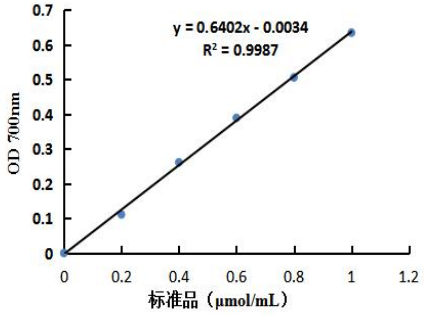
③ 显色反应：

上清液	50	50
试剂四	200	200

混匀，室温静置 3min，700nm 下读取各管吸光值，△A=A 测定-A 对照（每个样本做一个自身对照）。

五、结果计算：

1、标准曲线方程：y = 0.6402x - 0.0034，x 是标准品摩尔质量（μmol/mL），y 是△A。



2、按蛋白浓度计算：

定义：每小时每毫克组织蛋白分解 ATP 产生 1μmol 无机磷的量为一个酶活力单位。

酶活力(μmol/h/mg prot)= [(△A+0.0034)÷0.6402×V2] ÷（V1×Cpr）÷T

=18.74×(△A+0.0034)÷Cpr

3、按样本鲜重计算：

定义：每小时每克组织分解 ATP 产生 1μmol 无机磷的量为一个酶活力单位。

酶活力(μmol/h/g 鲜重)=[(△A+0.0034)÷0.6402×V2] ÷(W× V1÷V)÷T

=18.74×(△A+0.0034)÷W

V---加入提取液体积，1mL； V1---加入样本体积，0.05mL ；

V2---酶促反应总体积，0.2mL； T---反应时间，1/3 小时；

W---样本鲜重，g；

Cpr---样本蛋白质浓度，mg/mL；建议使用本公司的 BCA 蛋白含量检测试剂盒。

附：标准曲线制作过程：

1 制备标准品母液（5μmol/mL）：标准品用 10mL 试剂一溶解。（母液需在两天内用）。

2 把母液稀释成六个浓度梯度的标准品：0, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1. μmol/mL。也可根据实际样本来调整标准品浓度。

3 依据显色反应阶段测定管的加样体系操作，根据结果即可制作标准曲线。