



糖原磷酸化酶 a 活性检测试剂盒 GPa Assay Kit

紫外分光光度法

产品编号：AK493U

产品规格：50T/48S

产品组成及保存条件：

编号	规格	储存条件
ES493	60mL×1 瓶	4℃保存；
AK493-A	40 mL×1 瓶	4℃保存；
AK493-B	粉剂×1 瓶	-20℃保存；
AK493-C	粉剂×1 支	-20℃保存；
AK493-D	粉剂×1 支	-20℃保存；

※ 正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定。

简介：

意义：糖原磷酸化酶（Glycogen phosphorylase, GP, EC 2.4.1.1）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。GP 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。

原理：未添加激活剂时，GPa 催化糖原和无机磷产生葡萄糖残基生成糖原和 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，在 340nm 下测定 NADPH 上升速率，即可反映 GPa 活性。

自备用品：

紫外分光光度计、1 mL 石英比色皿、台式离心机、可调式移液器、研钵、冰和蒸馏水。

样本的前处理：

按照组织质量（g）：提取液体积（mL）为 1：5~10 的比例（建议称取约 0.1g 组织，加入 1mL ES493），进行冰浴匀浆。8000g 4℃离心 10min，取上清，置冰上待测。

测定步骤：

- 分光光度计或酶标仪预热 30min 以上，调节波长至 340nm，蒸馏水调零；
- 试剂配制：
 - 工作液的配制：临用前将 AK493-B 转移到 AK493-A 中混合溶解待用；用不完的试剂分装后 -20℃保存，禁止反复冻融。用前置于 37℃预热 5 分钟。
 - AK493-C 的配制：临用前在 AK493-C 管中加入 2.5mL 蒸馏水充分溶解待用；用不完的试剂分装后 -20℃保存，禁止反复冻融。用前置于 37℃预热 5 分钟。
 - AK493-D 的配制：临用前在 AK493-D 管中加入 2.5mL 蒸馏水充分溶解待用；用不完的试剂分装后 -20℃保存，禁止反复冻融。用前置于 37℃预热 5 分钟。
- 样本测定（石英比色皿或 96 孔板中加入）

试剂名称	测定管 (ul)
样品	50
AK493-C	50
AK493-D	50
蒸馏水	50
工作液	800

立即混匀，记录 340nm 处 5min 后的 A1 和 10min 后的吸光值 A2，计算 $\Delta A = A2 - A1$ 。

GP_a 活性计算：

1. 按样本蛋白浓度计算

单位定义：每 mg 组织蛋白每分钟产生 1nmol NADPH 定义为一个酶活力单位。

$$\text{GP}_a (\text{nmol/min/mg prot}) = [\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (V_{\text{样}} \times \text{Cpr}) \div T = 643 \times \Delta A \div \text{Cpr}$$

2. 按样本鲜重计算

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

$$\text{GP}_a (\text{nmol/min/g 鲜重}) = [\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 643 \times \Delta A \div W$$

注： V_{反总}：反应体系总体积， 1×10^{-3} L； ϵ ：NADPH 摩尔消光系数， 6.22×10^3 L / mol / cm；d：比色皿光径，1cm；V_样：加入样本体积，0.05 mL；V_{样总}：加入提取液体积，1 mL；T：反应时间，5 min；Cpr：样本蛋白质浓度，mg/mL；W：样本质量，g。

※ 蛋白定量检测建议使用本公司：BCA Protein Assay Kit ([C05-02001](#))