

结合态淀粉合成酶 (GBSS) 检测试剂盒（微量法）

货号：PMK1159

保存：-20℃避光保存 6 个月

规格：48T/96T

适用样本：植物组织

GBSS (EC 2.4.1.21) 以束缚态存在于淀粉体中，催化淀粉链的加长反应，主要负责直链淀粉的合成。本试剂盒提供了一种简便的比色测定法，用于测定样本中的 GBSS 活性。其原理是 GBSS 催化 ADPG 与淀粉引物(葡聚糖)反应, 将葡萄糖分子转移到淀粉引物上, 同时生成 ADP; 进一步通过反应体系中添加的丙酮酸激酶、己糖激酶和 6-磷酸葡萄糖脱氢酶依次催化 NADP⁺还原为 NADPH, 其中 NADPH 生成量与前一步反应生成的 ADP 数量呈正比, 通过 340nm 下测定 NADPH 的增加量, 可以计算 GBSS 活性。

产品内容

试剂盒组分	规格		储存条件
	48T	96T	
提取液	100mL×1 瓶	100mL×2 瓶	4℃ 保存
试剂一	20mL	40mL	4℃ 保存
试剂二	粉剂×1 瓶	粉剂×1 瓶	-20℃ 保存
试剂三	粉剂×1 瓶	粉剂×1 瓶	-20℃ 保存
试剂四	粉剂×1 瓶	粉剂×1 瓶	-20℃ 保存
试剂五	50uL	100uL	-20℃ 保存
试剂六	50uL	100uL	-20℃ 保存

自备耗材

酶标仪或紫外分光光度计（能测340nm处的吸光度）及恒温箱
96孔UV微孔板或微量石英比色皿、可调节式移液枪及枪头
制冰机、低温离心机
去离子水
匀浆器（如果是组织样本）

试剂准备

注意：小管试剂开盖前，请先低速离心。

提取液：即用型；4℃ 保存。

试剂一：即用型；使用前，平衡到室温；4℃ 保存。

试剂二：临用前 48T 加入 7mL 试剂一，96T 加入 14mL 试剂一，充分混匀备用；用不完的试剂分装后-20℃ 保存，避免反复冻融。

试剂三：临用前 48T 加入 4mL 试剂一，96T 加入 8mL 试剂一，充分混匀备用；用不完的试剂分装后-20℃ 保存，避免反复冻融。

试剂四：临用前 48T 加入 5mL 试剂一，96T 加入 10mL 试剂一，充分混匀备用；用不完的试剂分装后-20℃ 保存，避免反复冻融。

试剂五：临用前 48T 加入 250 μL 去离子水，96T 加入 500 μL 去离子水，充分溶解备用；用不完的试剂分装后-20℃ 保存，避免反复冻融。

产品说明书

试剂六：临用前48T加入250 μL去离子水，96T加入500 μL去离子水，充分溶解备用；用不完的试剂分装后-20℃保存，避免反复冻融。

样本制备

植物组织：称取 0.1g 样本，加入 1mL 提取液，冰浴匀浆。10,000g, 4℃ 离心 10min，弃上清，在沉淀中加入 1mL 提取液充分混匀，置冰上待测。

注意：推荐使用新鲜样本，如果不立即进行实验，样本可在-80℃保存 1 个月。如需测定蛋白浓度，推荐使用 Bradford 法蛋白质定量试剂盒进行样本蛋白质浓度测定。

实验步骤

1. 酶标仪或紫外分光光度计预热30min以上，调节波长到340nm，紫外分光光度计去离子水调零。
2. 样本测定：在 EP 依次加入下列试剂

试剂名称	测定 (μL)	对照 (μL)
样本	75	75
试剂二	135	0
去离子水	0	135
混匀，30℃保温 20min，置沸水浴中 1min（盖紧，防止水分散失），冰浴冷却		
试剂三	75	75
混匀，30℃保温 30 min，置沸水浴中 1 min（盖紧，防止水分散失），冰浴冷却		
试剂四	100	100
试剂五	5	5
试剂六	5	5

混匀（如果一次性测定样本较多，可以将试剂四、五和六按比例配成混合液再加入），45℃保温 20min，置沸水浴中 1min（盖紧，防止水分散失），冰浴冷却。10000g 4℃离心 10min，取 200μL 上清液加入 96 孔板或微量石英比色皿中，测定 340nm 的吸光值 A，计算 $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ ，每个测定管需设一个对照。

注意：1. 试剂二如有沉淀，加入之前要使之充分溶解混匀。

2. 实验之前建议选择 2-3 个预期差异大的样本做预实验，如果 ΔA 小于 0.001 可适当加大样本量，如果 ΔA 大于 1.0，样本可用提取液进一步稀释，计算结果乘以稀释倍数。

3. 测定反应的温度对测定结果有影响，请控制在对应温度。

结果计算

A. 用96孔板测定的计算公式如下

(1) 按样本鲜重计算：

酶活力单位的定义：每g组织在反应体系中每分钟产生1nmol的NADPH定义为一个酶活力单位。

GBSS活性 (U/g 鲜重) = $[\Delta A \times V_{\text{反应}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 45 \times \Delta A \div W$

(2) 按样本蛋白浓度计算：

单位的定义：每mg组织蛋白在反应体系中每分钟产生1nmol的NADPH定义为一个酶活力单位。

GBSS (U/mg prot) = $[\Delta A \times V_{\text{反应}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (V_{\text{样}} \times C_{\text{pr}}) \div T = 45 \times \Delta A \div C_{\text{pr}}$

$V_{\text{反应}}$ ：反应体系总体积， 2.1×10^{-4} L； ϵ ：NADH摩尔消光系数， 6.22×10^3 L/mol/cm；d：96孔板光径，0.5cm； 10^9 :1mol=1×10⁹ nmol； $V_{\text{样}}$ ：加入样本体积，0.075mL； $V_{\text{样总}}$ ：加入提取液体积，1mL；

T：反应时间，20min；Cpr：样本蛋白质浓度，mg/mL；W：样本质量，g。

B. 使用微量石英比色皿测定的计算公式

将上述计算公式中的光径d:0.5cm调整为d:1cm进行计算即可。

注意事项

1. 实验过程中请穿戴实验服、口罩和乳胶手套。请按照生物实验室的国家安全规定进行实验，尤其是在检测血样或其他体液时。
2. 本试剂盒仅用于实验室科学研究，如果本试剂盒用于临床诊断或任何其他用途，我们将不对任何后果负责。
3. 本试剂盒应在有效期内使用，并请严格按照说明书进行存储。

产品说明书

4. 不同批次号、不同厂家之间的组分不要混用；否则，可能导致结果异常。
5. 勤换吸头，避免各组分之间的交叉污染。

相关产品：

PMK1158 可溶性淀粉合成酶(SSS) 检测试剂盒(微量法)

PMK1160 淀粉分支酶(SBE) 检测试剂盒(微量法)

PMK1155 α -淀粉酶检测试剂盒(微量法)

PMK1156 β -淀粉酶检测试剂盒(微量法)



更多产品详情了解，请关注公众号：