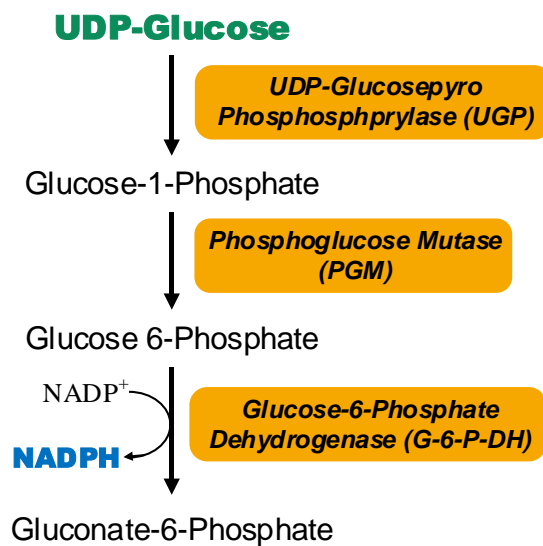




UDPG 焦磷酸化酶 (UGP) 活性检测试剂盒

UDP-Glucosepyro Phosphosphrylase (UGP) Activity Assay Kit



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



UDPG 焦磷酸化酶 (UGP) 活性检测试剂盒

UDP-Glucosepyro Phosphosphrylase (UGP) Activity Assay Kit

一、产品描述

尿苷二磷酸葡萄糖焦磷酸化酶 (UGP) 是植物体中碳水化合物合成代谢途径中的关键酶, 主要用于尿苷二磷酸葡萄糖 (UDP-Glucose, UDPG) 的合成与代谢, 能够催化 1-磷酸葡萄糖和 UTP 生成 UDP-葡萄糖 (UDPG), 其作为葡萄糖基供体参与蔗糖代谢、糖酯类、糖蛋白以及蛋白多糖的代谢, 具有重要的生物学功能和意义。

UDPG 焦磷酸化酶能够催化生成 1-磷酸葡萄糖, 其在磷酸葡萄糖变位酶和 6-磷酸葡萄糖脱氢酶的作用下将 NADP 转化为 NADPH, NADPH 在 340nm 处具有特征吸收峰, 通过吸光值的变化速率即可表征 UDPG 焦磷酸化酶的活性。

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 110 mL×1 瓶	4°C 保存	-
试剂一	粉剂×1 瓶	-20°C 保存	使用前加入 15 mL 蒸馏水充分溶解 (分装后-20°C可保存 2 周, 避免反复冻融)
试剂二	粉剂×2 瓶	4°C 保存	使用前加入 1.25 mL 蒸馏水充分溶解 (分装后 4°C可保存 2 周)
试剂三	粉剂×1 支	-20°C 保存	使用前加入 0.7 mL 蒸馏水充分溶解 (分装后-20°C可保存 1 个月, 避免反复冻融)
试剂四	粉剂×2 支	-20°C 保存	使用前加入 1 mL 蒸馏水充分溶解 (分装后-20°C可保存 2 周, 避免反复冻融)
试剂五	液体 2.5 mL×1 瓶	4°C 保存	-
试剂六	液体 5 mL×1 瓶	4°C 保存	-
UGP 工作液的配制 (现用现配): 使用前按试剂一: 试剂二: 试剂三: 试剂四: 试剂五: 试剂六=60:10:2:4:10:25 的体积比配制, 充分混匀即为 UGP 工作液的配制。			

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/96孔UV板、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0.1g组织，加入1mL提取液）处理样品，冰浴匀浆，4℃ 10000g离心10min，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（ 10^4 个）：提取液体积（mL）为（500-1000）:1的比例（建议500万细菌或细胞加入1mL提取液）处理样品，冰浴超声破碎（功率20%或200W，超声3s，间隔10s，重复30次），4℃ 10000g离心10min，取上清置于冰上待测。

③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/酶标仪预热30min以上，调节波长至340nm，蒸馏水调零。

②在微量石英比色皿或96孔UV板中依次加入下列试剂：

试剂	测定组 (μL)	空白组 (μL)
粗酶液	20	-
蒸馏水	-	20
UGP工作液	180	180

吸光值测定：①立即充分混匀并开始计时，测定10s（总时间）时340nm处吸光值，记为A1测定和A1空白；②37℃（哺乳动物）或25℃（其它物种）准确反应300s，测定310s（总时间）时340nm处吸光值，记为A2测定和A2空白；③计算 ΔA 测定=A2测定-A1测定， ΔA 空白=A2空白-A1空白， $\Delta A = \Delta A$ 测定- ΔA 空白。注：空白组只需测定1-2次。

3.UDPG 焦磷酸化酶（UGP）活性计算

3.1 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1nmolNADPH定义为一个酶活力单位。

$$\text{UGP (U/mg prot)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times 10^9}{\epsilon \times d_1 \times \text{Cpr} \times V_{\text{样}} \times T} = \frac{321.54 \times \Delta A}{\text{Cpr}}$$

Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.

Not for further distribution without written consent. Copyright © 2020 Boxbio, All Rights Reserved.

②按组织质量计算

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

$$\text{UGP (U/g)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{样总}} \times 10^9}{\varepsilon \times d_1 \times W \times V_{\text{样}} \times T} = \frac{321.54 \times \Delta A}{W}$$

③按细菌或细胞数量计算

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

$$\text{UGP (U/10}^4 \text{ cell)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{样总}} \times 10^9}{\varepsilon \times d_1 \times \text{细菌或细胞数量} \times V_{\text{样}} \times T} = \frac{321.54 \times \Delta A}{\text{细菌或细胞数量}}$$

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。

$$\text{UGP (U/mL)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times 10^9}{\varepsilon \times d_1 \times V_{\text{样}} \times T} = 321.54 \times \Delta A$$

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 ：微量石英比色皿光径，1 cm；Cpr：样本蛋白浓度，mg/mL；W：样本质量，g；细胞或细菌数量：以万计；T：反应时间，5 min； 10^9 ：单位换算系数，1 mol= 10^9 nmol。

3.1 使用 96 孔 UV 板测定的计算公式

将上述公式中的微量石英比色皿光径 $d_1=1$ cm 改为 96 孔 UV 板光径 $d_2=0.5$ cm 进行计算即可。

四、注意事项

①空白组为各试剂组分质量的检测孔，正常情况下变化不超过 0.01；

② ΔA 大于 0.5 或 A2 测定大于 1.0 时，建议将粗酶液适当稀释后再进行测定，若 ΔA 小于 0.01，可适当延长反应时间（5-10 min），计算时相应修改；

③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.

