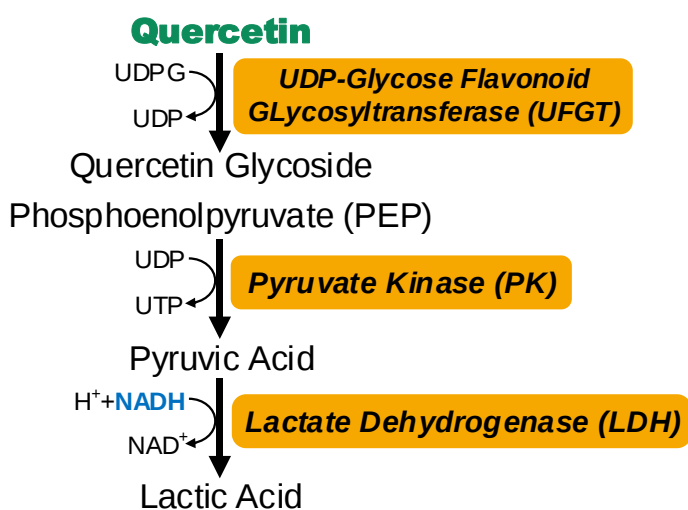




类黄酮糖基转移酶（UFGT）活性检测试剂盒

UDP-Flavonoid Glycosyltransferase (UFGT) Activity Assay Kit



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



类黄酮糖基转移酶 (UFGT) 活性检测试剂盒

UDP-Flavonoid Glycosyltransferase (UFGT) Activity Assay Kit

一、产品描述

类黄酮糖基转移酶是莽草酸途径的最后一个作用酶,也是使花色素形成稳定的花色苷的第一个作用酶,并使其由无色转为有色,作为果实着色过程中的关键酶,能够使不稳定的花色素转变为稳定的花色苷,对植物的颜色和营养品质具有重要作用,在农业、药物和保健品等领域具有广泛的应用价值。

类黄酮糖基转移酶能够催化 UDPG 与槲皮素生成 UDP 和槲皮素糖苷,UDP 在丙酮酸激酶与乳酸脱氢酶作用下,氧化 NADH 生成 NAD^+ , NAD^+ 生成速度与 UDP 含量成正比, NADH 在 340 nm 处具有特征吸收峰,通过吸光值的变化速率即可表征类黄酮糖基转移酶的活性。

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	组分 A	液体 110 mL×1 瓶	4°C 保存	使用前将组分 B 加入组分 A 中充分混匀 (配制后提取液为浑浊液,充分混匀使用即可)
	组分 B	粉剂×1 瓶	4°C 保存	
试剂一		液体 40 mL×1 瓶	4°C 保存	-
试剂二		液体 1 mL×1 支	-20°C 保存	使用前按试剂一: 试剂二=19:1 的体积比配制 (现用现配,充分混匀即为试剂二应用液)
试剂三		粉剂×1 瓶	-20°C 保存	使用前加入 10 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)
试剂四		液体 80 μL ×1 支	4°C 保存	-
试剂五		液体 35 μL ×1 支	4°C 保存	-
试剂六		粉剂×1 瓶	-20°C 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)
试剂七		粉剂×1 瓶	-20°C 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)
检测工作液的制备 (现用现配): 使用前根据使用量按试剂一: 试剂四: 试剂五: 试剂六: 试剂七=1400:5:2:300:300 的体积比配制,充分混匀即为检测工作液。				

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（光径 10 mm）/96 孔 UV 板、研钵/匀浆器、可调式移液器/多道移液器、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）

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℃ 12000 g 离心 10 min，取上清即为**粗酶液**，置于冰上待测。

2.测定步骤

①紫外分光光度计或酶标仪预热 30 min 以上，调节波长至 340 nm，蒸馏水调零。

②试验前将**检测工作液**置于 37℃预热 5 min。

③在离心管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
试剂二应用液	90	90
试剂三	90	90
①充分混匀，30℃准确反应 4 h		
②95℃处理 10 min，冷却至室温		
③4℃ 12000 g 离心 5 min，取上清液		
在 96 孔 UV 板中依次加入下列试剂：		
上清液	30	30
检测工作液	270	270

注：95℃处理过程中注意密封以防止水分散失。

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℃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 ΔA 测定=A1 测定-A2 测定， ΔA 空白=A1 空白-A2 空白， $\Delta A=\Delta A$ 测定- ΔA 空白。注：空白组只需测定 1-2 次。

3.类黄酮糖基转移酶（UFGT）活性计算

3.1 使用 96 孔 UV 板测定的计算公式

①按组织蛋白浓度计算

单位定义：每 mg 组织蛋白每小时消耗 1 nmol NADH 定义为一个酶活力单位。

$$\text{UFGT (U/mg prot)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{酶促}} \times 10^9}{\epsilon \times d_1 \times V_{\text{样}} \times V_{\text{上清}} \times \text{Cpr} \times T} = \frac{8038.59 \times \Delta A}{\text{Cpr}}$$

②按组织样本质量计算

单位定义：每 g 组织样本每小时消耗 1 nmol NADH 定义为一个酶活力单位。

$$\text{UFGT (U/g)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{样总}} \times V_{\text{酶促}} \times 10^9}{\epsilon \times d_1 \times V_{\text{样}} \times V_{\text{上清}} \times W \times T} = \frac{8038.59 \times \Delta A}{W}$$

3.2 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 组织蛋白每小时消耗 1 nmol NADH 定义为一个酶活力单位。

$$\text{UFGT (U/mg prot)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{酶促}} \times 10^9}{\epsilon \times d_2 \times V_{\text{样}} \times V_{\text{上清}} \times \text{Cpr} \times T} = \frac{4019.29 \times \Delta A}{\text{Cpr}}$$

②按组织样本质量计算

单位定义：每 g 组织样本每小时消耗 1 nmol NADH 定义为一个酶活力单位。

$$\text{UFGT (U/g)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{样总}} \times V_{\text{酶促}} \times 10^9}{\epsilon \times d_2 \times V_{\text{样}} \times V_{\text{上清}} \times W \times T} = \frac{4019.29 \times \Delta A}{W}$$

注释： V 反总：37℃反应体系总体积， 3×10^{-4} L；V 酶促：30℃酶促反应体系总体积，0.2 mL；V 样：反应体系中加入粗酶液的体积，0.02 mL；V 上清：反应体系中加入上清液的体积，0.03 mL；V 样总：粗酶液总体积，1 mL； ϵ ：NADH 摩尔消光系数， 6.22×10^3 L/mol/cm； d_1 ：96 孔 UV 板光径，0.5 cm； d_2 ：微量石英比色皿光径，1.0 cm；Cpr：粗酶液蛋白浓度，mg/mL；W：样本质量，g；T：反应时间，4 h； 10^9 ：单位换算系数，1 mol/L = 10^9 nmol/L。

四、注意事项

①准确在规定时间点完成吸光值测定，以确保检测结果的准确性和重复性；若使用 96 孔 UV 板应使用多道移液器且分批进行检测，以确保组间反应时间一致；

②若 ΔA 大于 0.5 或 A1 测定小于 A1 空白，建议将粗酶液适当稀释后再进行测定；若 ΔA 小于 0.02，建议适当延长酶促反应时间（30℃反应时间）或增加样本量后再进行测定，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.

