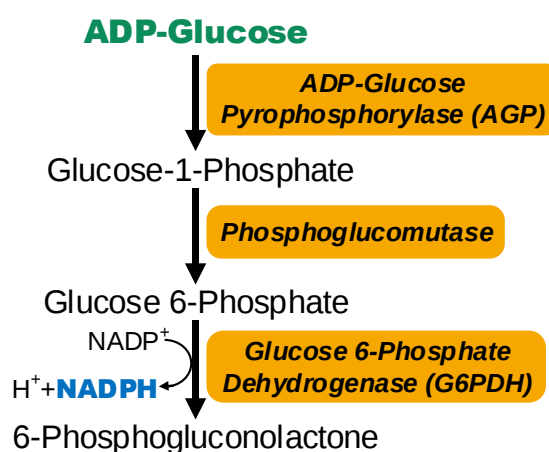




腺苷二磷酸葡萄糖焦磷酸化酶 (AGP) 活性检测试剂盒
ADP-Glucose Pyrophosphorylase (AGP) Activity Assay Kit



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



腺苷二磷酸葡萄糖焦磷酸化酶（AGP）活性检测试剂盒

ADP-Glucose Pyrophosphorylase (AGP) Activity Assay Kit

一、产品描述

腺苷二磷酸葡萄糖焦磷酸化酶（AGP）是淀粉合成过程中的关键酶及主要限速步骤，可催化葡萄糖-1-磷酸（G-1-P）与三磷酸腺苷（ATP）反应生成腺苷二磷酸葡萄糖（ADPG）并释放焦磷酸（PPi），其活性大小与直链淀粉、支链淀粉和总淀粉的积累速率及灌浆速率呈显著正相关，对于淀粉含量的提高及农作物品质改善具有重要意义。

腺苷二磷酸葡萄糖焦磷酸化酶能够催化逆向反应生成葡萄糖-1-磷酸，再通过磷酸葡萄糖变位酶和 6-磷酸葡萄糖脱氢酶依次催化生成 6-磷酸葡萄糖酸和 NADPH，NADPH 在 340 nm 处具有特征吸收峰，通过吸光值的变化即可表征腺苷二磷酸葡萄糖焦磷酸化酶的活性。

二、产品内容

名称	试剂规格	储存条件	使用方法及注意事项
提取液	液体 120 mL×1 瓶	4°C保存	-
试剂一	液体 15 mL×1 瓶	4°C保存	-
试剂二	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)
试剂三	粉剂×1 瓶	-20°C保存	使用前加入 3 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 3 mL×1 瓶	-20°C保存	-

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°C 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试验前将试剂一 30℃预热 10 min 以上。
- ③在离心管中依次加入下列试剂：

试剂	测定组 (μL)
试剂一	50
试剂二	80
粗酶液	10

①充分混匀，30℃准确反应 15 min；
②沸水浴处理 1 min，冰浴迅速冷却至室温；
③4℃ 5000 g 离心 5 min，取上清；

在 96 孔 UV 板或微量比色皿中依次加入下列试剂：

上清液	80
试剂一	80
试剂三	20
试剂四	20

吸光值测定：充分混匀并立即开始计时，测定 340 nm 处初始吸光值记为 A1 和 120 s 时 340 nm 处吸光值记为 A2，计算 $\Delta A = A_2 - A_1$ 。

3.ADPG 焦磷酸化酶 (AGP) 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 组织蛋白每分钟催化生成 1 nmol NADPH 定义为一个酶活力单位。

$$\text{AGP (U/mg prot)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{酶促}} \times 10^9}{\epsilon \times d_1 \times C_{\text{pr}} \times V_{\text{样}} \times V_{\text{上清}} \times T} = \frac{5627 \times \Delta A}{C_{\text{pr}}}$$

②按组织样本质量计算

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

$$\text{AGP (U/g)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{提}} \times V_{\text{酶促}} \times 10^9}{\epsilon \times d_1 \times W \times V_{\text{样}} \times V_{\text{上清}} \times T} = \frac{5627 \times \Delta A}{W}$$

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 组织蛋白每分钟催化生成 1 nmol NADPH 定义为一个酶活力单位。

$$\text{AGP (U/mg prot)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{酶促}} \times 10^9}{\epsilon \times d_2 \times \text{Cpr} \times V_{\text{样}} \times V_{\text{上清}} \times T} = \frac{2813.5 \times \Delta A}{\text{Cpr}}$$

②按组织样本质量计算

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

$$\text{AGP (U/g)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{提}} \times V_{\text{酶促}} \times 10^9}{\epsilon \times d_2 \times W \times V_{\text{样}} \times V_{\text{上清}} \times T} = \frac{2813.5 \times \Delta A}{W}$$

注释： V 样：反应体系中加入粗酶液的体积，0.01 mL；V 酶促：酶促反应总体积，0.14 mL；V 上清：反应体系中加入上清液的体积，0.08 mL；V 反总：反应体系总体积，2×10⁻⁴L；V 提：粗酶液总体积，1 mL；ε：NADPH 摩尔消光系数，6.22×10³ L/mol/cm；d₁：96 孔 UV 板光径，0.5 cm；d₂：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；T：反应时间，2 min。

四、注意事项

①准确在规定时间点完成吸光值测定，以保证结果准确性和重复性；若使用 96 孔 UV 板进行测定，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沸水浴处理过程中注意密封以防止水分散失；

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.

boxbio

Manufactured and Distributed by

Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.
Liandong U Valley, Tongzhou District, Beijing, China

TEL: 400-805-8228

E-MAIL: techsupport@boxbio.cn

Copyright © 2020 Boxbio, All Rights Reserved.

