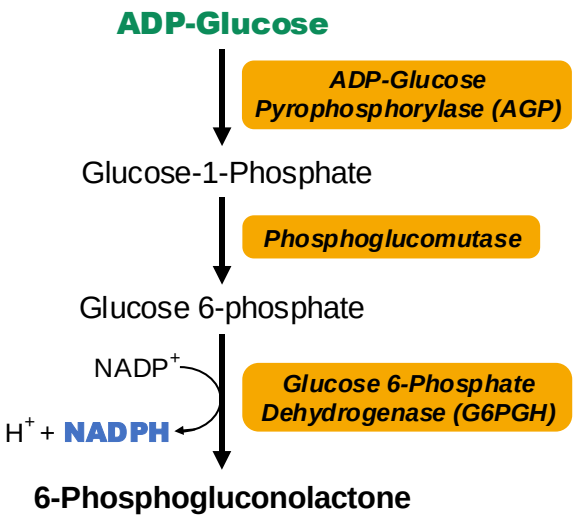
# 腺苷二磷酸葡萄糖焦磷酸化酶（AGP）活性检测试剂盒

# 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.

Catalog Number **AKSU029U-2**
Storage Temperature **-20°C**
Size **60T/50S**

**Ultraviolet Spectrophotometry**

# 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 60 mL×1 瓶 | 4℃保存 | - |
| **试剂一** | 液体 40 mL×1 瓶 | 4℃保存 | - |
| **试剂二** | 粉剂×1 瓶 | -20℃保存 | **使用前加入 20 mL 蒸馏水充分溶解**<br>（分装后-20℃保存，避免反复冻融） |
| **试剂三** | 粉剂×1 瓶 | -20℃保存 | **使用前加入 6 mL 蒸馏水充分溶解**<br>（分装后-20℃保存，避免反复冻融） |
| **试剂四** | 液体 6 mL×1 瓶 | -20℃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、1 mL 石英比色皿（光径 10 mm）、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）

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。


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

**2.测定步骤**

①紫外分光光度计预热 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** | 200 |
| **试剂二** | 320 |
| **粗酶液** | 40 |
| ①充分混匀，30℃准确反应 15 min；<br>②沸水浴处理 1 min，冰浴迅速冷却至室温；<br>③4℃ 5000 g 离心 5 min，**取上清**； | |
| **上清液** | 400 |
| **试剂一** | 400 |
| **试剂三** | 100 |
| **试剂四** | 100 |

**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ΔA=A2-A1。

**3.ADPG 焦磷酸化酶（AGP）活性计算**

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。

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

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。

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

**注释：**V 样：反应体系中加入粗酶液的体积，0.04 mL；V 酶促：酶促反应总体积，0.56 mL；V 上清：反应体系中加入上清液的体积，0.4 mL；V 反总：反应体系总体积，$1\times10^{-3}$ L；V 提：粗酶液总体积，1 mL；ε：NADPH 摩尔消光系数，$6.22\times10^{3}$ L/mol/cm；d：1 mL 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。

Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.
Not for further distribution without written consent. Copyright © 2020 Boxbio, All Rights Reserved.

## 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；

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.