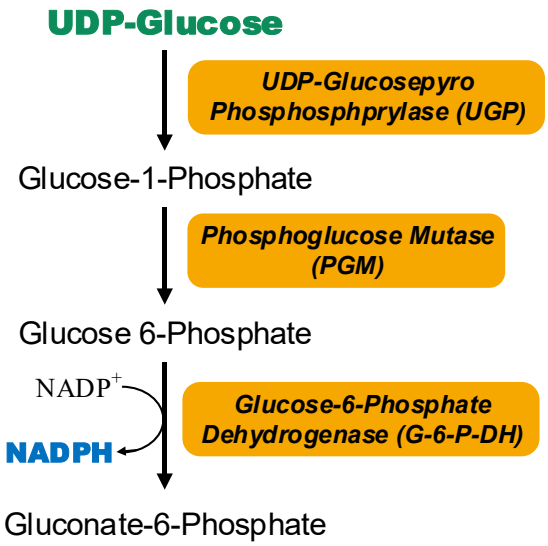
UDPG 焦磷酸化酶（UGP）活性检测试剂盒

UDP-Glucosepyro Phosphosphprylase (UGP) Activity Assay Kit



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

Catalog Number **AKSU035U**
Storage Temperature **-20°C**
Size **50T/48S**

Ultraviolet Spectrophotometry

UDPG 焦磷酸化酶（UGP）活性检测试剂盒

UDP-Glucosepyro Phosphosphprylase (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 55 mL×1 瓶	4℃保存	-
试剂一	粉剂×1 瓶	-20℃保存	**使用前加入 30 mL 蒸馏水充分溶解**（分装后-20℃可保存 1 个月，避免反复冻融）
试剂二	粉剂×2 瓶	4℃保存	**使用前每瓶加入 2.5 mL 蒸馏水充分溶解**（分装后 4℃可保存 1 周）
试剂三	粉剂×2 支	-20℃保存	**使用前每支加入 0.7 mL 蒸馏水充分溶解**（分装后-20℃可保存一个月，避免反复冻融）
试剂四	粉剂×2 支	-20℃保存	**使用前每支加入 1 mL 蒸馏水充分溶解**（分装后-20℃可保存 2 周，避免反复冻融）
试剂五	液体 5 mL×1 瓶	4℃保存	-
试剂六	液体 15 mL×1 瓶	4℃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。			

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

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、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 0.1 g 组织，加入 1 mL 提取液）处理样品，冰浴匀浆，4℃ 10000 g 离心 10 min，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 1 mL 提取液）处理样品，冰浴超声破碎（功率 20%或 200 W，超声 3 s，间隔 10 s，重复 30 次），4℃ 10000 g 离心 10 min，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紫外分光光度计预热 30 min 以上，调节波长至 340 nm，蒸馏水调零。

②在 1 mL 石英比色皿中依次加入下列试剂：

试剂	测定组（μL）	空白组（μL）
粗酶液	100	-
蒸馏水	-	100
UGP 工作液	900	900

吸光值测定：①立即充分混匀并开始计时，测定 10 s（总时间）时 340 nm 处吸光值，记为 A1 测定和 A1 空白；②37℃（哺乳动物）或 25℃（其它物种）准确反应 300 s，测定 310 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=A2 测定-A1 测定，ΔA 空白=A2 空白-A1 空白，ΔA=ΔA 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

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 1 nmol NADPH 定义为一个酶活力单位。

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

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。

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

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。

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

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。

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

注释：V 样：反应体系中加入粗酶液的体积，0.1 mL；V 样总：粗酶液总体积，1 mL；V 反总：反应体系总体积，1×10^{-3} L；ε：NADPH 摩尔消光系数，6.22×10^3 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；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。

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；

②ΔA 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.

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.