

焦磷酸化酶（UGP）检测试剂盒（紫外分光光度法）

产品货号：BA1178

产品规格：50管/48样

产品简介：

尿苷二磷酸葡萄糖焦磷酸化酶（UDP-glucose pyrophosphorylase, UGP, EC 2.7.7.9）在自然界广泛分布。在葡萄糖合成糖原前催化葡萄糖活化，将1-磷酸葡萄糖与UTP分子合成为UDP-葡萄糖（UDPG），UDPG是高等植物和动物中主要活化酶的形式，作为葡萄糖基供体参与糖原、蔗糖、纤维素等的合成代谢。

UGP可逆的催化生成1-磷酸葡萄糖，其在磷酸葡萄糖变位酶和6-磷酸葡萄糖脱氢酶作用下将NADP转化为NADPH，UGP活性可以用340nm的吸光值的变化来反应。

注意：实验之前建议选择2-3个预期差异大的样本做预实验。如果样本吸光值不在测量范围内建议稀释或者增加样本量进行检测。

产品内容：

试剂名称	规格	保存条件
提取液	液体55mL×1瓶	2-8℃
试剂一	粉剂×2瓶	-20℃
试剂二	粉剂×1瓶	2-8℃
试剂三	粉剂×1支	-20℃
试剂四	粉剂×2支	-20℃
试剂五	液体5mL×1瓶	2-8℃
试剂六	液体15mL×1瓶	2-8℃

溶液的配制：

1. 试剂一：临用前加15mL蒸馏水充分溶解；用不完的试剂分装后-20℃保存，禁止反复冻融，-20℃保存2周。
2. 试剂二：临用前加5mL蒸馏水充分溶解；用不完的试剂分装后4℃保存，禁止反复冻融，4℃保存1周。
3. 试剂三：临用前加1.4mL蒸馏水充分溶解；用不完的试剂分装后-20℃保存，禁止反复冻融，-20℃保存2周。
4. 试剂四：临用前每支加1mL蒸馏水充分溶解；用不完的试剂分装后-20℃保存，禁止反复冻融，-20℃保存2周。
5. 工作液的配制：将试剂一：试剂二：试剂三：试剂四：试剂五：试剂六按体积比=600：100：20：40：100：250混合，现用现配。

需自备的仪器和用品：

紫外分光光度计、台式离心机、水浴锅、1mL石英比色皿、可调式移液枪、研钵/匀浆器、冰和蒸馏水。

操作步骤：

一、样品处理（可适当调整待测样本量，具体比例可以参考文献）

1. 组织：按照组织质量（g）：提取液体积（mL）为1：5~10的比例（建议称取约0.1g组织，加入1mL提取液）进行冰浴匀浆，然后10000g，4℃，离心10min，取上清置于冰上待测。
2. 细胞：按照细胞数量（10⁴个）：提取液体积（mL）为500~1000：1的比例（建议500万细胞加入1mL提取液），冰浴超声破碎细胞（功率300w，超声3秒，间隔7秒，总时间3min）；然后10000g，4℃，离心10min，取上清置于冰上待测。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q：807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com

3. 血清等液体：直接检测。

测定操作

1. 紫外分光光度计预热30min以上，调节波长至340nm，蒸馏水调零。
2. 操作表：

试剂名称 (μL)	空白管	测定管
试剂一	-	100
工作液	900	900
蒸馏水	100	-

在1mL石英比色皿中分别加入上述试剂，充分混匀后于340nm处测定10s时的吸光值A1，迅速置于37℃（哺乳动物）水浴锅或者培养箱反应5min，拿出迅速擦干测定310s时的吸光值A2，计算ΔA测定管= A2测定-A1测定，ΔA空白管=A2空白-A1空白，ΔA=ΔA测定管-ΔA空白管（空白管只需做1-2次）。

三、UGP酶活计算

1. 按照样本蛋白浓度计算

酶活单位定义：每毫克组织蛋白每分钟产生1nmol的NADPH定义为一个酶活力单位。

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

2. 按照样本质量计算

酶活单位定义：每克组织每分钟产生1nmol的NADPH定义为一个酶活力单位。

$$\text{UGP (U/g 质量)} = [\Delta A \div (\epsilon \times d) \times V_{\text{反总}} \times 10^9] \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 321.54 \times \Delta A \div W$$

3. 按照细胞数量计算

酶活单位定义：每10⁴个细胞每分钟产生1nmol的NADPH定义为一个酶活力单位。

$$\text{UGP (U/10}^4\text{cell)} = [\Delta A \div (\epsilon \times d) \times V_{\text{反总}} \times 10^9] \div (500 \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 0.643 \times \Delta A$$

4. 按照液体体积计算

酶活单位定义：每毫升液体每分钟产生1nmol的NADPH定义为一个酶活力单位。

$$\text{UGP (U/mL)} = [\Delta A \div (\epsilon \times d) \times V_{\text{反总}} \times 10^9] \div V_{\text{样}} \div T = 321.54 \times \Delta A$$

V反总：反应体系总体积，1×10⁻³L；ε：NADPH摩尔消光系数，6.22×10³L/mol/cm；d：比色皿光径，1cm；

V样：加入样本体积，0.1mL；V样总：加入提取液体积，1mL；T：反应时间，5min；Cpr：样本蛋白质浓度，mg/mL；W：样本质量，g；500：细胞或细菌总数，500万；10⁹：单位换算系数，1mol=10⁹nmol。

注意事项：

1. 空白管为检测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0.6或者A2测定大于1.2时，建议将样本稀释后再进行测定。当ΔA小于0.01时，可以延长反应时间（5min或10min）来测定。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

QQ：807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com