

尿苷二磷酸葡萄糖醛酸转移酶（UDPGT）活性检测试剂盒 （可见分光光度法）

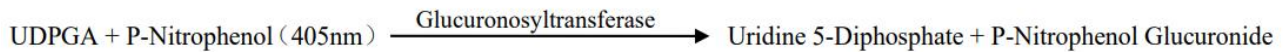
产品货号：BA2180

产品规格：50T/24S

产品简介：

尿苷二磷酸葡萄糖醛酸转移酶（glucuronosyltransferase, UDPGT/UGT, EC 2.4.1.17）是一种结合在内质网上的膜蛋白，该酶催化葡萄糖醛酸基团从供体尿苷二磷酸葡萄糖醛酸（Uridine 5-Diphosphoglucuronic Acid, UDPGA）转移至受体上，受体包括酚类、醇类、胺类和脂肪酸类。葡萄糖醛酸化代谢促进了药物和其他外源物质通过肾脏或胆汁的排泄，在生物体内代谢、解毒、清除过程中发挥重要作用。

UDPGT催化供体尿苷二磷酸葡萄糖醛酸的葡萄糖醛酸基团转移至对硝基苯酚，后者在405nm处有特征吸收峰，通过测定吸光值降低速率可计算UDPGT活性。



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。

产品组成：

试剂名称	规格	保存条件
提取液	液体50mL×1瓶	2-8℃
试剂一	液体30mL×1瓶	2-8℃
试剂二	液体2.4mL×1瓶	2-8℃
试剂三	液体2.5mL×1瓶	2-8℃
试剂四	液体2.4mL×1瓶	2-8℃
试剂五	粉剂×1支	-20℃
试剂六	液体25mL×1瓶	2-8℃
标准品	液体1mL×1支	2-8℃

溶液的配制：

1. 试剂五：临用前加入1.238mL蒸馏水，-20℃分装可保存4周，避免反复冻融；
2. 工作液：临用前根据样本量按照试剂二：试剂三：试剂四=80μL：80μL：80μL（0.24mL，2T）的比例配制，现用现配；
3. 标准品：5μmol/mL的对硝基苯酚溶液。临用前取50μL 5μmol/mL对硝基苯酚溶液，加入950μL蒸馏水，配制成0.25μmol/mL对硝基苯酚溶液，现用现配。

需自备的仪器和用品：

可见分光光度计、低温离心机、分析天平、水浴锅/恒温培养箱、1mL玻璃比色皿、可调式移液枪、研钵/匀浆器、冰和蒸馏水。

操作步骤：

一、样本处理（可适当调整待测样本量，具体比例可以参考文献）

1. 称取0.1g样本，加入1.0mL提取液，用匀浆器或研钵于冰上匀浆；
2. 4℃，800g离心10min，弃沉淀，留上清液，4℃，9000g离心20min，弃沉淀，留上清液；



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. 4℃, 12000g 离心 60min, 弃上清, 留沉淀。沉淀中加入 0.5mL 提取液重悬, 置于冰上待测。

二、测定步骤

1. 可见分光光度计预热 30min 以上, 调节波长至 405nm, 蒸馏水调零。
2. 将试剂一 37℃ 预热 15min;
3. 操作表 (在 EP 管中加入下列试剂):

试剂名称 (μL)	测定管	对照管	空白管	标准管
样本	200	200	-	-
蒸馏水	-	-	200	-
标准品	-	-	-	200
试剂一	440	480	600	600
工作液	120	120	-	-
试剂五	40	-	-	-
混匀, 37℃ 反应 10min。				
试剂六	400	400	400	400
混匀, 于 4℃, 8000g 离心 10min, 取上清液 1mL 于 1mL 玻璃比色皿, 测定 405nm 处吸光值, 分别记为 A 测定、A 对照、A 空白和 A 标准, 计算 $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{对照}} - A_{\text{测定}}$, $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}$ 。空白管和标准管只需测 1-2 次。				

三、UDPGT 活性计算

1. 按样本蛋白浓度计算

单位的定义: 每 mg 组织蛋白每 min 催化消耗 1nmol 对硝基苯酚定义为一个酶活单位。

$$\text{UDPGT 活性 (U/mg prot)} = (\Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \times C_{\text{标准}}) \times V_{\text{样}} \div (C_{\text{pr}} \times V_{\text{样}}) \times 10^3 \div T \\ = 25 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div C_{\text{pr}}$$

2. 按样本质量计算

单位的定义: 每 g 组织每 min 催化消耗 1nmol 对硝基苯酚定义为一个酶活单位。

$$\text{UDPGT 活性 (U/g 质量)} = (\Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \times C_{\text{标准}}) \times V_{\text{样}} \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \times 10^3 \div T \\ = 12.5 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div W$$

C 标准: 0.25μmol/mL; V 样: 反应体系中加入的样本体积, 0.2mL; V 样总: 重悬沉淀加入提取液的体积, 0.5mL; Cpr: 蛋白质浓度, mg/mL; W: 样本质量, g; 10³: 单位换算系数, 1μmol=10³nmol; T: 反应时间, 10min。

注意事项:

1. 如果 $\Delta A_{\text{测定}}$ 小于 0.004 或测定管吸光值接近对照管, 可以增加样本量或者延长 37℃ 反应时间后再进行测定; 如果 $\Delta A_{\text{测定}}$ 大于 0.9, 建议将重悬液用提取液适当稀释后再进行测定。注意同步修改计算公式。



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