

类黄酮糖基转移酶（UFGT）活性检测试剂盒 （紫外分光光度法）

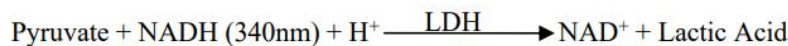
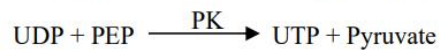
产品货号：BA2169

产品规格：50T/48S

产品简介：

类黄酮糖基转移酶（UDP-glycose flavonoid glycosyltransferase, UFGT）是莽草酸途径的最后一个作用酶，也是使花色素形成稳定的花色苷的第一个作用酶，并使其由无色转为有色；UFGT是果实着色过程中的关键酶，它使不稳定的花色素转变为稳定的花色苷。

UFGT催化UDPG与槲皮素生成UDP和槲皮素糖苷；UDP在丙酮酸激酶与乳酸脱氢酶作用下，氧化NADH为NAD⁺，NAD⁺生成速度与UDP含量成正比，通过340nm吸光度下降速度反映UFGT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60mL×1瓶	2-8℃
粉剂一	粉剂×1瓶	2-8℃
试剂一	液体70mL×1瓶	2-8℃
试剂二	液体1.5mL×1支	-20℃
试剂三	粉剂×1瓶	-20℃
试剂四	液体150μL×1支	2-8℃
试剂五	液体60μL×1支	2-8℃
试剂六	粉剂×1瓶	-20℃
试剂七	粉剂×1瓶	-20℃

溶液的配制：

1. 提取液：临用前将粉剂一倒入提取液中，此溶液为悬浊液，使用前摇匀即可；
2. 试剂二工作液：临用前根据样本数量按照试剂一：试剂二= 855μL:45μL（900μL，2T）的比例配制，充分混匀，现配现用；
3. 试剂三：临用前加入30mL蒸馏水溶解，未用完的试剂分装保存，-20℃保存可以保存4周，避免反复冻融；
4. 试剂六：临用前加入10mL蒸馏水溶解，未用完的试剂分装保存，-20℃保存可以保存4周，避免反复冻融；
5. 试剂七：试剂放于试剂瓶内玻璃瓶中。临用前加入9mL蒸馏水溶解，未用完的试剂分装保存，-20℃保存可以保存4周，避免反复冻融；
6. 工作液：临用前根据样本数量按照试剂一：试剂四：试剂五：试剂六：试剂七=1.4mL：5μL：2μL：0.3 mL：0.3mL（2007μL，约2T）的比例配制，充分混匀，现配现用。（试剂四、试剂五使用前需先将液体离心至底部使用）。



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

需自备的仪器和用品:

紫外分光光度计、低温离心机、水浴锅/恒温培养箱、分析天平、可调式移液器、1mL 石英比色皿、研钵/匀浆器、蒸馏水和冰。

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. 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。10000g 4℃离心 10min，取上清，置冰上待测。

二、测定步骤

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. 加样表：首先在 1.5mLEP 管中按下表步骤加样：

试剂名称（μL）	空白管	标准管
样本	100	-
蒸馏水	-	100
试剂二工作液	450	450
试剂三	450	450
混匀，30℃反应 4h，95℃水浴 10min 灭活，冷却至室温。10000g 4 离心 5min，取上清液待测。（在此期间将工作液 37℃预热 5min）		
上清液	100	100
试剂三	900	900
将上清液和工作液分别加入 1mL 石英比色皿中，立即充分混匀后于 340nm 处测定 10s 时的吸光值 A1，迅速置于 37℃水浴锅或者恒温培养箱中反应 2min，拿出迅速擦干测定 2min10s 时的吸光值 A2，记录 340nm 下 10s 时吸光值 A1 和 2min 后的吸光值 A2。计算 A 测定=A1 测定-A2 测定，A 空白=A1 空白-A2 空白，ΔA =A 测定-A 空白。空白管只需做 1-2 次。		

三、类黄酮糖基转移酶（UFGT）活力计算

1. 按照蛋白浓度计算

单位的定义：每 mg 组织蛋白每小时催化 1nmol NADH 定义为一个酶活力单位。

$$\text{UFGT 活力(U/mg prot)} = \Delta A \times V \text{ 反总 II} \div (\varepsilon \times d) \times 10^9 \div (\text{Cpr} \times V \text{ 样} \div V \text{ 反总 I} \times V \text{ 上清}) \div T \times F$$

$$= 4019.29 \times \Delta A \div \text{Cpr} \times F$$

2. 按样本质量计算

单位的定义：每 g 组织每小时催化 1nmol NADH 定义为一个酶活力单位。

$$\text{UFGT 活力(U/g 质量)} = \Delta A \times V \text{ 反总 II} \div (\varepsilon \times d) \times 10^9 \div (W \times V \text{ 样} \div V \text{ 样总} \div V \text{ 反总 I} \times V \text{ 上清}) \div T \times F$$

$$= 4019.29 \times \Delta A \div W \times F$$

V 反总 I：30℃第一步反应体系总体积（V 样+ V 试剂二工作液+V 试剂三），1mL；V 反总 II：37℃第二步反应体系总体积，1×10³L；ε：NADPH 摩尔消光系数，6.22×10³ L/mol/cm；d：石英比色皿光径，1cm；V 样：加入样本体积，0.1mL；V 上清：第二步反应中上清液体积，0.1 mL；V 样总：加入提取液体积，1mL；T：反应时间，4h；Cpr：样本蛋白质浓度，mg/mL；W：样本质量，g；F：稀释倍数；10⁹：换算系数，1mol=10⁹nmol。

注意事项:

1. 如果 A1 测定 < A1 空白或者 ΔA 大于 0.5，可以对上清液进行稀释或者缩短 30℃反应时间重新测定；ΔA 小于 0.005，可以加大样本量或者延长 30℃反应反应时间重新测定。最终计算时同步修改计算公式。



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