

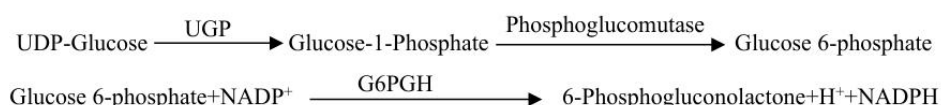
## UDPG焦磷酸化酶（UGP）检测试剂盒（微量法）

产品货号：BA1385

产品规格：100管/96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。

### 产品组成：

| 试剂名称 | 规格         | 保存条件 |
|------|------------|------|
| 提取液  | 液体110mL×1瓶 | 2-8℃ |
| 试剂一  | 粉剂×1瓶      | -20℃ |
| 试剂二  | 粉剂×2瓶      | 2-8℃ |
| 试剂三  | 粉剂×1支      | -20℃ |
| 试剂四  | 粉剂×2支      | -20℃ |
| 试剂五  | 液体2.5mL×1瓶 | 2-8℃ |
| 试剂六  | 液体5mL×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。
2. 试剂二：临用前加1.25mL蒸馏水充分溶解；用不完的试剂分装后2-8℃保存2周。
3. 试剂三：临用前加0.7mL蒸馏水充分溶解；用不完的试剂分装后-20℃保存4周，禁止反复冻融。
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2周，禁止反复冻融。
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/酶标仪、台式离心机、水浴锅、微量石英比色皿/96孔UV板、可调式移液枪、研钵/匀浆器/细胞超声破碎仪、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. 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。



扫一扫 加微信

**上海尚宝生物科技有限公司**

Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话：400-611-0007 13671551480

Q Q：807961520

邮箱：saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com

2. 细胞：按照细胞数量（ $10^4$ 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。
3. 血清等液体：直接检测。

## 二、测定步骤

1. 紫外分光光度计/酶标仪预热30min以上，调节波长至340nm，蒸馏水调零。

2. 操作表：

| 试剂名称                 | 空白管 | 测定管 |
|----------------------|-----|-----|
| 样本（ $\mu\text{L}$ ）  | -   | 20  |
| 工作液（ $\mu\text{L}$ ） | 180 | 180 |
| 蒸馏水（ $\mu\text{L}$ ） | 20  | -   |

在微量石英比色皿/96孔UV板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5min（酶标仪有控温功能的可将温度调至37℃），拿出迅速擦干测定310s时的吸光值A2，计算 $\Delta A$ 测定管=A2测定-A1测定， $\Delta A$ 空白管=A2空白-A1空白， $\Delta A = \Delta A$ 测定管- $\Delta A$ 空白管（空白管只需做1-2次）。

## 三、UGP酶活计算

1. 按微量玻璃比色皿进行计算：

- (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。

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

- (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 $10^4$ 个细胞每分钟产生1nmol的NADPH定义为一个酶活力单位。

$$\text{UGP (U/104 cell)} = [\Delta A \div (\epsilon \times d) \times V_{\text{反总}} \times 10^9] \div (500 \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 0.643 \times \Delta A$$

- (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， $1 \times 10^{-3}\text{L}$ ； $\epsilon$ ：NADPH摩尔消光系数， $6.22 \times 10^3\text{L/mol/cm}$ ；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； $10^9$ ：单位换算系数， $1\text{mol}=10^9\text{nmol}$ 。

2. 按96孔UV板进行计算：

将计算公式中的d-1cm修改为d-0.6cm进行计算即可。

## 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. A大于0.6或者A2测定大于1.5时，建议将样本稀释后再进行测定。当 $\Delta A$ 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

**上海尚宝生物科技有限公司**  
Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话：400-611-0007 13671551480

Q Q：807961520

邮箱：saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com