

类黄酮糖基转移酶(UFGT)试剂盒（微板法）

产品货号：BA2701

产品规格：48样

产品简介：

植物类黄酮糖基转移酶(UFGT)催化类黄酮生物合成的最后一步从而形成多种多样的糖苷衍生物。有研究表明UFGT的表达水平与花色苷积累呈现正相关，是花色苷生物合成的关键酶。

类黄酮糖基转移酶(UFGT)催化槲皮素和UDP-半乳糖生成槲皮素-3-半乳糖苷，通过检测该产物在350nm处的增加速率，即可计算得出该酶活性大小。

产品内容：

试剂名称	规格	保存要求	备注
提取液	液体60mL×1瓶	2-8℃	
试剂一	粉剂mg×2支	2-8℃	用前甩几下或离心使试剂落入底部，再加1mL乙醇溶解备用。
试剂二	液体15mL×1瓶	2-8℃	
试剂三	粉剂mg×1支	-20℃	用前甩几下或离心使粉剂落入底部，再加0.6mL蒸馏水溶解备用。用不完的试剂分装后-20℃保存。
试剂四	粉剂mg×2瓶	2-8℃	用前甩几下或离心使粉剂落入底部，再加12mL甲醇溶解备用。

所需的仪器和用品：

酶标仪、96孔板、台式离心机、无水乙醇、水浴锅、可调式移液器、研钵、冰。

类黄酮糖基转移酶(UFGT)活性测定：

建议正式实验前选取2个样本做预测定，了解本批样品情况，熟悉实验流程，避免实验样本和试剂浪费！

1. 样本制备：

① 组织样本：

称取约0.2g组织(水分充足的样本可多取如1g，但纯乙醇需加入5mL)，加入1mL经预冷的纯乙醇冰浴匀浆(保证乙醇在整个匀浆液中体积约85%)，低温(可放冰上或4℃冰箱)放置10min；12000rpm，4℃离心5min；弃上清，留沉淀，向沉淀中加入经预冷的纯乙醇混匀，4℃放置10min；12000rpm，4℃离心5min；弃上清，留沉淀。再向沉淀中加入1mL经预冷提取液，涡旋混匀，12000rpm，4℃离心10min；上清液置冰上待测。

② 液体样本：

若液体澄清可直接检测；若浑浊则12000rpm，4℃离心10min，取上清置冰上待测。

2. 上机检测：

① 酶标仪预热30min以上，调节波长至350nm。

② 试剂解冻至室温(25℃)或于25℃水浴中孵育15-30min中。

③ 在EP管中依次加入试剂：



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

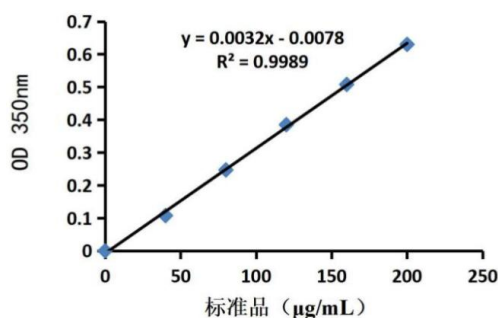
http://www.saint-bio.com

试剂名称 (μL)	测定管	对照管
样本	100	100
试剂一	15	15
试剂二	100	100
试剂三	10	
蒸馏水		10
混匀, 30°C孵育30min		
试剂四	75	75
混匀, 8000rpm室温离心, 吸取上清液至96孔板中, 于350nm处读值, $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ (每个样本做一个自身对照)。		

【注】：1. 若 ΔA 值在零附近徘徊, 可增加样本加样量 V_1 (如增至200μL, 则试剂二减少至0μL), 或增加样本取样质量 W , 则改变后的 V_1 和 W 需代入公式重新计算。
2. 若 A 测定太大如超过2, 可用试剂四对8000rpm离心后的上清液进行稀释(如取离心后上清液100μL至96孔板中, 再加100μL的试剂四, 即相当于稀释2倍), 则稀释倍数 D 则需代入计算公式重新计算。

结果计算:

1. 标准曲线: $y = 0.0032x - 0.0078$: x 为标准品即槲皮素-3-半乳糖苷(μg/mL), y 为 ΔA 。



2. 按样本蛋白浓度计算:

定义: 每毫克组织蛋白每小时生成1μg标准品即槲皮素-3-半乳糖苷定义为一个酶活单位。

$$\text{UFGT}(\mu\text{g/h/mg prot}) = [(\Delta A + 0.0078) \div 0.0032 \times V_1] \div (V_1 \times \text{Cpr}) \div T \times D = 625 \times (\Delta A + 0.0078) \div \text{Cpr} \times D$$

3. 按样本鲜重计算:

定义: 每克组织每小时生成1μg标准品即皮素-3-半乳糖苷定义为一个酶活单位。

$$\text{UFGT}(\mu\text{g/h/g 鲜重}) = [(\Delta A + 0.0078) \div 0.0032 \times V_1] \div (W \times V_1 \div V) \div T \times D = 625 \times (\Delta A + 0.0078) \div W \times D$$

4. 按液体体积计算:

定义: 每毫升液体每小时生成1μg标准品即槲皮素-3-半乳糖苷定义为一个酶活单位。

$$\text{UFGT}(\mu\text{g/h/mL}) = [(\Delta A + 0.0078) \div 0.0032 \times V_1] \div V_1 \div T \times D = 625 \times (\Delta A + 0.0078) \times D$$

V ---加入提取液体积, 1mL; W ---样本质量, g; V_1 ---加入样本体积, 0.1mL; T ---反应时间, 30min=0.5h;

D ---稀释倍数, 未稀释即为1; Cpr ---蛋白浓度(mg/mL), 建议使用本公司的BCA蛋白含量测定试剂盒。



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