

UDP-glucose Pyrophosphorylase Activity Assay Kit

尿苷二磷酸葡萄糖焦磷酸化酶（UGP）试剂盒说明书

货号:BN72090 | 方法: 微板法 | 规格: 48 样

一、产品简介:

UDPG 焦磷酸化酶 (UGP, EC 2.7.7.9) 是碳水化合物代谢的重要指标之一, 广泛分布于自然界中, 在微生物及动植物的许多组织中都有存在。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)。为各类碳水化合物包括蔗糖、葡聚糖、纤维素、半纤维素、果胶质、糖蛋白等的合成提供葡萄糖基。

UGP 可逆催化反应生成 1 磷酸葡萄糖, 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, 340nm 的吸光值增加速率反映了 UGP 活性。

二、试剂盒组成和配制:

试剂名称	规格	保存要求	备注
提取液	液体60mL×1瓶	4℃保存	
试剂一	液体6mL×1瓶	4℃保存	
试剂二	粉体×1支	-20℃保存	临用前甩几下使粉体落入底部, 再加0.6mL试剂一混匀溶解, 可-20℃分装保存。
试剂三	粉体mg×1支	4℃保存	临用前甩几下使粉体落入底部, 再加 3mL 去离子水溶解备用。
试剂四	粉体mg×1支	4℃保存	临用前甩几下使粉体落入底部, 再加 3mL 去离子水溶解备用。

三、所需的仪器和用品:

酶标仪、96 孔板、可调式移液器、天平、低温离心机、研钵、蒸馏水。

四、尿苷二磷酸葡萄糖焦磷酸化酶（UGP）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 0.1g 组织 (水分充足的样本可取 0.2g), 加 1mL 提取液, 进行冰浴匀浆, 12000rpm, 4℃离心 10min, 取上清, 置冰上待测。

【注】: 也可按照组织质量 (g): 提取液体积(mL)为 1: 5~10 的比例进行提取。

② 细胞样本:

取 500 万细胞加入 1mL 提取液; 超声波破碎细胞 (冰浴, 功率 20%或 200W, 超声 3s, 间隔 10s, 重复 30 次); 12000rpm, 4℃离心 10min, 取上清, 置冰上待测。

【注】: 若增加样本量, 可按照细胞数量(10^4 个): 提取液体积(mL)为 1000~5000: 1 比例进行提取。

③ 液体样品: 直接检测。若浑浊, 离心后取上清检测。

2、上机检测:

① 打开酶标仪, 设定波长至 340nm, 设定温度为 30℃。

② 所有试剂解冻至室温 (25℃), 在 96 孔板中依次加入:

试剂名称 (μL)	测定管
样本	10
试剂一	80
试剂二	10
试剂三	50
轻轻混匀，30°C 孵育 10min。	
试剂四	50
轻轻混匀，反应开始，1min 时在 340nm 处读取吸光值 A1，5min 时读取 A2， $\Delta A = A2 - A1$ 。	

注意：本操作流程适用于绝大多数常规样本检测，实验条件可根据实际样本状态适度微调；
针对特殊类型样本，我司技术支持可提供专属优化建议。

五、结果计算：

1、按照样本蛋白浓度计算：

酶活定义：每毫克组织蛋白每分钟消耗 1nmol 的 NADP⁺ 定义为一个酶活力单位。

$$\text{UGP}(\text{nmol}/\text{min}/\text{mg prot}) = [\Delta A \div (\epsilon \times d) \times V2 \times 10^9] \div (V1 \times \text{Cpr}) \div T = 1607.8 \times \Delta A \div \text{Cpr}$$

2、按照样本质量计算：

酶活定义：每克组织每分钟消耗 1nmol 的 NADP⁺ 定义为一个酶活力单位。

$$\text{UGP}(\text{nmol}/\text{min}/\text{g 鲜重}) = [\Delta A \div (\epsilon \times d) \times V2 \times 10^9] \div (W \times V1 \div V) \div T = 1607.8 \times \Delta A \div W$$

3、按照细胞数量计算：

酶活定义：每 10⁴ 个细胞每分钟消耗 1nmol 的 NADP⁺ 定义为一个酶活力单位。

$$\text{UGP}(\text{nmol}/\text{min}/10^4 \text{ cell}) = [\Delta A \div (\epsilon \times d) \times V2 \times 10^9] \div (500 \times V1 \div V) \div T = 3.2 \times \Delta A$$

4、按照液体体积计算：

酶活定义：每毫升液体每分钟消耗 1nmol 的 NADP⁺ 定义为一个酶活力单位。

$$\text{UGP}(\text{nmol}/\text{min}/\text{mL}) = [\Delta A \div (\epsilon \times d) \times V2 \times 10^9] \div V1 \div T = 1607.8 \times \Delta A$$

ϵ ---NADPH 摩尔消光系数， $6.22 \times 10^3 \text{ L}/\text{mol}/\text{cm}$ ；

V---加入提取液体积，1mL；

V1---加入样本体积，0.01mL；

V2---反应体系总体积， $2 \times 10^{-4} \text{ L}$ ；

d---96 孔板光径，0.5cm；

T---反应时间，4min；

500---细胞总数，万；

W---样本质量，g；

Cpr---样本蛋白质浓度，mg/mL；建议使用本公司的 BCA 蛋白含量检测试剂盒。