

## ADPG焦磷酸化酶（AGP）活性检测试剂盒（微量法）

产品货号：BA1036

产品规格：100管/96样

### 产品说明：

AGP (EC 2.7.7.21)主要存在于植物中，催化葡萄糖-1-磷酸与ATP反应生成淀粉合成的直接前体ADPG，是植物淀粉生物合成的主要限速步骤。

AGP催化的逆向反应生成G-1-P，在反应体系中添加的磷酸己糖变位酶和6-磷酸葡萄糖脱氢酶依次催化生成6-磷酸葡萄糖酸和NADPH，340nm下测定NADPH增加速率，即可计算AGP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。**

### 产品内容：

试剂名称	规格	保存条件
提取液	液体100mL×1瓶	4℃
试剂一	液体20mL×1瓶	4℃
试剂二	粉剂×1瓶	-20℃
试剂三	粉剂×2瓶	4℃
试剂四	粉剂×2支	-20℃
试剂五	液体250μL×2支	-20℃

溶液的配制：

1. 试剂二：临用前每支加入6.4mL双蒸水充分溶解备用；用不完的试剂-20℃分装保存；
2. 试剂三：临用前加入2mL双蒸水充分溶解备用；用不完的试剂-20℃分装保存；
3. 试剂四：临用前每支加入500μL双蒸水充分溶解备用；用不完的试剂-20℃分装保存；

### 需自备的仪器和用品：

紫外分光光度计/酶标仪、水浴锅、台式离心机、可调式移液器、微量石英比色皿/96孔板（UV板）、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）

称取约0.1g组织加入1mL提取液，冰浴中匀浆。10000g，4℃离心10min，取上清，置冰上待测。

#### 二、测定步骤

1. 分光光度计或酶标仪预热30min以上，调节波长至340nm，蒸馏水调零。
2. 在EP管中按顺序加入下列试剂

试剂（μL）	测定管
试剂一	40
试剂二	64
样本	8



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

混匀，30℃保温15min，置沸水浴中1min（盖紧，防止水分散失），冰浴迅速冷却。试剂一、试剂三置37℃保温10min以上。

试剂一	120
试剂三	40
试剂四	8
试剂五	4

混匀后立即在340nm波长下记录初始吸光度A1和2min后的吸光度A2，计算 $\Delta A = A_2 - A_1$ 。

## 二、AGP活性计算

### a. 使用微量石英比色皿测定的计算公式如下：

#### 1. 按样本蛋白浓度计算

单位的定义：每mg组织蛋白在反应体系中每分钟催化产生1nmol NADPH定义为一个酶活性单位。

$$\text{AGP活性 (U/mg prot)} = \Delta A \div (\epsilon \times d) \times V_{\text{反总}} \div T \div (C_{\text{pr}} \times V_{\text{样本}}) = 380.5 \times \Delta A \div C_{\text{pr}}$$

（此法需要自行测定粗酶液蛋白质浓度）

#### 2. 按照样本质量计算

单位的定义：每g组织在反应体系中每分钟催化产生1nmol NADPH定义为一个酶活力单位。

$$\text{AGP活性 (U/g 质量)} = \Delta A \div (\epsilon \times d) \times V_{\text{反总}} \div T \div (W \times V_{\text{样本}} \div V_{\text{提取}}) = 380.5 \times \Delta A \div W$$

T: 反应时间, 15min;  $\epsilon$ : NADPH消光系数,  $6.22 \times 10^{-3} \text{ mL/nmol/cm}$ ; V反总: 反应总体积, 0.284mL; d: 石英比色皿光程, 1cm; Cpr: 样本蛋白浓度, mg/mL; V样本: 加入的样本体积, 0.008mL; V提取: 加入的提取液体积, 1mL; W: 样本质量, g。

### b. 使用96孔UV板测定的计算公式如下：

#### 1. 按样本蛋白浓度计算

单位的定义：每mg组织蛋白在反应体系中每分钟催化产生1nmol NADPH定义为一个酶活性单位。

$$\text{AGP活性 (U/mg prot)} = \Delta A \div (\epsilon \times d) \times V_{\text{反总}} \div T \div (C_{\text{pr}} \times V_{\text{样本}}) = 634.1 \times \Delta A \div C_{\text{pr}}$$

（此法需要自行测定粗酶液蛋白质浓度）

#### 2. 按照样本质量计算

单位的定义：每g组织在反应体系中每分钟催化产生1nmol NADPH定义为一个酶活力单位。

$$\text{AGP活性 (U/g 质量)} = \Delta A \div (\epsilon \times d) \times V_{\text{反总}} \div T \div (W \times V_{\text{样本}} \div V_{\text{提取}}) = 634.1 \times \Delta A \div W$$

T: 反应时间, 15min;  $\epsilon$ : NADPH消光系数,  $6.22 \times 10^{-3} \text{ mL/nmol/cm}$ ; V反总: 反应总体积, 0.284mL; d: 96孔板光程, 0.6cm; Cpr: 样本蛋白浓度, mg/mL; V样本: 加入的样本体积, 0.008mL; V提取: 加入的提取液体积, 1mL; W: 样本质量, g。

### 注意事项：

如果一次性测定样本较多，可以将试剂一、二按比例配成混合液1，将试剂一、三、四和五按比例配成混合液2。



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