尿苷二磷酸葡萄糖醛酸转移酶（UDPGT）活性检测试剂盒（微量法）

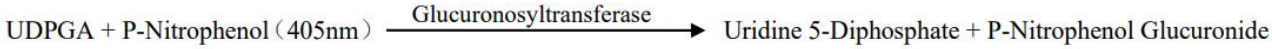
产品货号：BA2181

产品规格：100T/48S

产品简介：

尿苷二磷酸葡萄糖醛酸转移酶（glucuronosyltransferase，UDPGT/UGT，EC 2.4.1.17）是一种结合在内质网上的膜蛋白，该酶催化葡萄糖醛酸基团从供体尿苷二磷酸葡萄糖醛酸（Uridine 5-Diphosphoglucuronic Acid，UDPGA）转移至受体上，受体包括酚类、醇类、胺类和脂肪酸类。葡萄糖醛酸化代谢促进了药物和其他外源物质通过肾脏或胆汁的排泄，在生物体内代谢、解毒、清除过程中发挥重要作用。

UDPGT催化供体尿苷二磷酸葡萄糖醛酸的葡萄糖醛酸基团转移至对硝基苯酚，后者在405nm处有特征吸收峰，通过测定吸光值降低速率可计算UDPGT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100mL×1瓶	2-8℃
试剂一	液体15mL×1瓶	2-8℃
试剂二	液体1.2mL×1瓶	2-8℃
试剂三	液体1.2mL×1瓶	2-8℃
试剂四	液体1.2mL×1瓶	2-8℃
试剂五	粉剂×1支	-20℃
试剂六	液体12mL×1瓶	2-8℃
标准品	液体1mL×1支	2-8℃

溶液的配制：

1. 试剂五：临用前加入0.619mL蒸馏水，-20℃分装可保存4周，避免反复冻融；
2. 工作液：临用前根据样本量按照试剂二：试剂三：试剂四=100μL：100μL：100μL（0.3mL，10T）的比例配制，现用现配；
3. 标准品：5μmol/mL的对硝基苯酚溶液。临用前取50μL 5μmol/mL对硝基苯酚溶液，加入950μL蒸馏水，配制成0.25μmol/mL对硝基苯酚溶液，现用现配。

需自备的仪器和用品：

可见分光光度计/酶标仪、低温离心机、分析天平、水浴锅/恒温培养箱、微量玻璃比色皿/96 孔板、可调式移液枪、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）

1. 称取 0.1g 样本，加入 1.0mL 提取液，用匀浆器或研钵于冰上匀浆；

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. 4℃，800g 离心 10min，弃沉淀，留上清液，4℃，9000g 离心 20min，弃沉淀，留上清液；
3. 4℃，12000g 离心 60min，弃上清，留沉淀。沉淀中加入 0.5mL 提取液重悬，置于冰上待测。

二、测定步骤

1. 可见分光光度计/酶标仪预热 30min 以上，调节波长至 405nm，分光光度计用蒸馏水调零。
2. 将试剂一 37℃预热 15min；
3. 操作表（在 EP 管中加入下列试剂）：

试剂名称（μL）	测定管	对照管	空白管	标准管
样本	50	50	-	-
蒸馏水	-	-	50	-
标准品	-	-	-	50
试剂一	110	120	150	150
工作液	30	30	-	-
试剂五	10	-	-	-
混匀，37℃反应 10min。				
试剂六	100	100	100	100
混匀，于 4℃，8000g 离心 10min，取上清液 200μL 于微量玻璃比色皿/96 孔板，测定 405nm 处吸光值，分别记为 A 测定、A 对照、A 空白和 A 标准，计算ΔA 测定=A 对照-A 测定，ΔA 标准=A 标准-A 空白。空白管和标准管只需测 1-2 次。				

三、UDPGT 活性计算

1. 按样本蛋白浓度计算

单位的定义：每 mg 组织蛋白每 min 催化消耗 1nmol 对硝基苯酚定义为一个酶活单位。

UDPGT 活性（U/mg prot）=（ΔA 测定÷ΔA 标准×C 标准）×V 样÷（Cpr×V 样）×10^3÷T

=25×ΔA 测定÷ΔA 标准÷Cpr

2. 按样本质量计算

单位的定义：每 g 组织每 min 催化消耗 1nmol 对硝基苯酚定义为一个酶活单位。

UDPGT 活性（U/g 质量）=（ΔA 测定÷ΔA 标准×C 标准）×V 样÷（W×V 样÷V 样总）×10^3÷T

=12.5×ΔA 测定÷ΔA 标准÷W

C 标准：0.25μmol/mL；V 样：反应体系中加入的样本体积，0.05mL；V 样总：重悬沉淀加入提取液的体积，0.5mL；Cpr：蛋白质浓度，mg/mL；W：样本质量，g；10^3：单位换算系数，1μmol=10^3nmol；T：反应时间，10min。

注意事项：

1. 如果ΔA 测定小于 0.004 或测定管吸光值接近对照管，可以增加样本量或者延长 37℃反应时间后再进行测定；如果ΔA 测定大于 0.9，建议将重悬液用提取液适当稀释后再进行测定。注意同步修改计算公式。

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