

## 类黄酮糖基转移酶 (UFGT) 活性检测试剂盒 (紫外分光光度法)

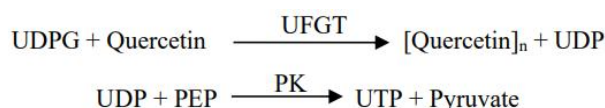
产品货号: BA2169

产品规格: 50T/48S

### 产品简介:

类黄酮糖基转移酶 (UDP-glycose flavonoid glycosyltransferase, UFGT) 是莽草酸途径的最后一个作用酶, 也是使花色素形成稳定的花色苷的第一个作用酶, 并使其由无色转为有色; UFGT是果实着色过程中的关键酶, 它使不稳定的花色素转变为稳定的花色苷。

UFGT催化UDPG与槲皮素生成UDP和槲皮素糖苷; UDP在丙酮酸激酶与乳酸脱氢酶作用下, 氧化NADH为NAD<sup>+</sup>, NAD<sup>+</sup>生成速度与UDP含量成正比, 通过340nm吸光度下降速度反映UFGT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60mL×1瓶	2-8°C
粉剂一	粉剂×1瓶	2-8°C
试剂一	液体70mL×1瓶	2-8°C
试剂二	液体1.5mL×1支	-20°C
试剂三	粉剂×1瓶	-20°C
试剂四	液体150μL×1支	2-8°C
试剂五	液体60μL×1支	2-8°C
试剂六	粉剂×1瓶	-20°C
试剂七	粉剂×1瓶	-20°C

### 溶液的配制:

1. 提取液: 临用前将粉剂一倒入提取液中, 此溶液为悬浊液, 使用前摇匀即可;
2. 试剂二工作液: 临用前根据样本数量按照试剂一: 试剂二= 855μL:45μL (900μL, 2T)的比例配制, 充分混匀, 现配现用;
3. 试剂三: 临用前加入30mL蒸馏水溶解, 未用完的试剂分装保存, -20°C保存可以保存4周, 避免反复冻融;
4. 试剂六: 临用前加入10mL蒸馏水溶解, 未用完的试剂分装保存, -20°C保存可以保存4周, 避免反复冻融;
5. 试剂七: 试剂放于试剂瓶内玻璃瓶中。临用前加入9mL蒸馏水溶解, 未用完的试剂分装保存, -20°C保存可以保存4周, 避免反复冻融;
6. 工作液: 临用前根据样本数量按照试剂一: 试剂四: 试剂五: 试剂六: 试剂七=1.4mL: 5μL: 2μL: 0.3 mL: 0.3mL (2007μL, 约2T)的比例配制, 充分混匀, 现配现用。(试剂四、试剂五使用前需先将液体离心至底部使用)。



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

### 需自备的仪器和用品:

紫外分光光度计、低温离心机、水浴锅/恒温培养箱、分析天平、可调式移液器、1mL 石英比色皿、研钵/匀浆器、蒸馏水和冰。

### 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。10000g 4°C 离心 10min, 取上清, 置冰上待测。

#### 二、测定步骤

1. 紫外分光光度计预热 30min 以上, 调节波长至 340nm, 蒸馏水调零。
2. 加样表: 首先在 1.5mL EP 管中按下表步骤加样:

试剂名称 (μL)	空白管	标准管
样本	100	-
蒸馏水	-	100
试剂二工作液	450	450
试剂三	450	450
混匀, 30°C 反应 4h, 95°C 水浴 10min 灭活, 冷却至室温。10000g 4 离心 5min, 取上清液待测。(在此期间将工作液 37°C 预热 5min)		
上清液	100	100
试剂三	900	900
将上清液和工作液分别加入 1mL 石英比色皿中, 立即充分混匀后于 340nm 处测定 10s 时的吸光值 A1, 迅速置于 37°C 水浴锅或者恒温培养箱中反应 2min, 拿出迅速擦干测定 2min 10s 时的吸光值 A2, 记录 340nm 下 10s 时吸光值 A1 和 2min 后的吸光值 A2。计算 A 测定 = A1 测定 - A2 测定, A 空白 = A1 空白 - A2 空白, ΔA = A 测定 - A 空白。空白管只需做 1-2 次。		

#### 三、类黄酮糖基转移酶 (UFGT) 活力计算

1. 按照蛋白浓度计算

单位的定义: 每 mg 组织蛋白每小时催化 1nmol NADH 定义为一个酶活力单位。

$$\text{UFGT 活力 (U/mg prot)} = \Delta A \times V_{\text{反总 II}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9 \div (C_{\text{pr}} \times V_{\text{样}} \div V_{\text{反总 I}} \times V_{\text{上清}}) \div T \times F$$

$$= 4019.29 \times \Delta A \div C_{\text{pr}} \times F$$

2. 按样本质量计算

单位的定义: 每 g 组织每小时催化 1nmol NADH 定义为一个酶活力单位。

$$\text{UFGT 活力 (U/g 质量)} = \Delta A \times V_{\text{反总 II}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9 \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \div V_{\text{反总 I}} \times V_{\text{上清}}) \div T \times F$$

$$= 4019.29 \times \Delta A \div W \times F$$

V 反总 I: 30°C 第一步反应体系总体积 (V 样 + V 试剂二工作液 + V 试剂三), 1mL; V 反总 II: 37°C 第二步反应体系总体积,  $1 \times 10^{-3}$  L;  $\epsilon$ : NADPH 摩尔消光系数,  $6.22 \times 10^3$  L/mol/cm; d: 石英比色皿光径, 1cm; V 样: 加入样本体积, 0.1mL; V 上清: 第二步反应中上清液体积, 0.1 mL; V 样总: 加入提取液体积, 1mL; T: 反应时间, 4h; Cpr: 样本蛋白质浓度, mg/mL; W: 样本质量, g; F: 稀释倍数;  $10^9$ : 换算系数, 1mol =  $10^9$  nmol。

### 注意事项:

1. 如果 A1 测定 < A1 空白或者 ΔA 大于 0.5, 可以对上清液进行稀释或者缩短 30°C 反应时间重新测定; ΔA 小于 0.005, 可以加大样本量或者延长 30°C 反应反应时间重新测定。最终计算时同步修改计算公式。



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