

类黄酮糖基转移酶 (UFGT) 活性检测试剂盒 (微量法)

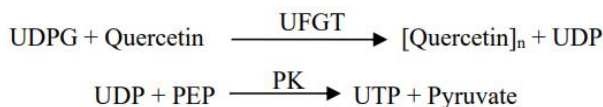
产品货号: BA2168

产品规格: 100T/96S

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⁺, NAD⁺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110mL×1瓶	2-8°C
粉剂一	粉剂×1瓶	2-8°C
试剂一	液体40mL×1瓶	2-8°C
试剂二	液体1mL×1支	-20°C
试剂三	粉剂×1瓶	-20°C
试剂四	液体80μL×1支	2-8°C
试剂五	液体35μL×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= 171μL:9μL (180μL, 2T) 的比例配制, 充分混匀, 现配现用;
3. 试剂三: 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;
4. 试剂六: 试剂放于试剂瓶内玻璃瓶中。临用前加入6mL蒸馏水, 充分混匀, 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6mL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: 0.3mL: 0.3mL (2007μL, 约7T) 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/酶标仪、低温离心机、水浴锅/恒温培养箱、分析天平、可调式移液器、微量石英比色皿/96孔板、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/酶标仪预热 30min 以上, 调节波长至 340nm, 紫外分光光度计用蒸馏水调零。
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	20	-
蒸馏水	-	20
试剂二工作液	90	90
试剂三	90	90
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	30	30
试剂三	270	270
将上清液和工作液分别加入微量石英比色皿中或 96 孔 UV 板中, 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 水浴或恒温培养箱 2min (酶标仪有控温功能可将温度调至 37°C), 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。

$$\text{UFGT 活力 (U/mg prot)} = \frac{\Delta A \times V \text{ 反总 II} \div (\epsilon \times d) \times 10^9 \div (\text{Cpr} \times V \text{ 样} \div V \text{ 反总 I} \times V \text{ 上清}) \div T \times F}{= 4019.29 \times \Delta A \div \text{Cpr} \times F}$$

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。

$$\text{UFGT 活力 (U/g 质量)} = \frac{\Delta A \times V \text{ 反总 II} \div (\epsilon \times d) \times 10^9 \div (\text{W} \times V \text{ 样} \div V \text{ 样总} \div V \text{ 反总 I} \times V \text{ 上清}) \div T \times F}{= 4019.29 \times \Delta A \div \text{W} \times F}$$

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), 0.2mL; V 反总 II: 37°C 第二步反应体系总体积, 0.3×10^{-3} L; ϵ : NADPH 摩尔消光系数, 6.22×10^3 L/mol/cm; d: 石英比色皿或 96 孔板光径, 1cm; V 样: 加入样本体积, 0.02mL; V 上清: 第二步反应中上清液体积, 0.03mL; 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