

## 尿苷二磷酸葡萄糖焦磷酸化酶 (UDP-glucose pyrophosphorylase, UGP) 试剂盒说明书

(货号: G0535F 分光法 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30mL×1瓶	4℃保存	
试剂二	粉体×1支	-20℃保存	临用前加1.1mL试剂一溶解, 仍-20℃保存。
试剂三	粉体mg×1瓶	4℃保存	临用前加 5.5mL 去离子水溶解。
试剂四	粉体mg×1瓶	4℃保存	临用前加 5.5mL 去离子水溶解。

### 三、所需的仪器和用品:

可见分光光度计、石英比色皿 (光径 1cm)、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 0.3g), 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 的比例进行提取

##### 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 可见分光光度计预热 30min, 调节波长至 340nm, 设定温度为 30℃, 蒸馏水调零。

② 在 1mL 石英比色皿中依次加入:

试剂名称 (μL)	测定管
样本	40
试剂一	460
试剂二	20

试剂三	100
轻轻混匀，30℃孵育 10min。	
试剂四	100
轻轻混匀，反应开始，1min 时在 340nm 处读取吸光值 A1， 5min 时读取 A2， $\Delta A=A2-A1$ 。	

## 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 1 nmol 的 NADP 定义为一个酶活力单位。

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

$$= 723.5 \times \Delta A \div \text{Cpr}$$

### (2) 按照样本质量计算

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

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

$$= 723.5 \times \Delta A \div W$$

### (3) 按照细胞数量计算

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

$$\text{UGP (nmol/min/104 cell)} = [\Delta A \div (\epsilon \times d) \times V2 \times 10^9] \div (500 \times V1 \div V) \div T$$

$$= 1.45 \times \Delta A$$

### (4) 按照液体体积计算

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

$$\text{UGP (nmol/min/mL)} = [\Delta A \div (\epsilon \times d) \times V2 \times 10^9] \div V1 \div T = 723.5 \times \Delta A$$

$\epsilon$ ---NADPH 摩尔消光系数， $6.22 \times 10^3 \text{ L/mol/cm}$ ； V---加入提取液体积，1mL；

V1---加入样本体积，0.04mL；

V2---反应体系总体积， $7.2 \times 10^{-4} \text{ L}$ ；

d---比色皿光径，1cm；

T---反应时间，4min；

500---细胞总数，500 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。