

# 类黄酮糖基转移酶(UDP-glycose flavonoid glycosyltransferase, UFGT)

## 试剂盒说明书

(货号: G1009F 紫外法 24 样)

### 一、产品简介:

植物类黄酮糖基转移酶(UFGT)催化类黄酮生物合成的最后一步从而形成多种多样的糖苷衍生物。有研究表明 UFGT 的表达水平与花色苷积累呈现正相关,是花色苷生物合成的关键酶。

类黄酮糖基转移酶(UFGT)催化槲皮素和 UDP-半乳糖生成槲皮素-3-半乳糖苷,通过检测该产物在 350nm 处的增加速率,即可计算出该酶活性大小。

### 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 30mL×1 瓶	4°C保存	
试剂一	粉剂 mg×2 支	4°C保存	使用前甩几下或离心使粉剂落入底部,再加 1mL 乙醇溶解备用。
试剂二	液体 15mL×1 瓶	4°C保存	
试剂三	粉剂 mg×1 支	-20°C保存	使用前甩几下或离心使粉剂落入底部,再加 0.6mL 蒸馏水溶解备用。用不完的试剂分装后-20°C保存。
试剂四	粉剂 g×2 瓶	4°C保存	使用前甩几下使试剂落入底部,再加 15mL 甲醇溶解备用。

### 三、所需的仪器和用品:

紫外分光光度计、1mL 石英比色皿(光径 1cm)、台式离心机、无水乙醇、水浴锅、可调式移液器、研钵、冰。

### 四、类黄酮糖基转移酶(UFGT)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 0.2g 组织(水分充足的样本可多取如 1g,但纯乙醇需加入 5mL),加入 1mL 经预冷的纯乙醇冰浴匀浆(保证乙醇在整个匀浆液中体积约 85%),低温(可放冰上或 4°C冰箱)放置 10min; 12000rpm, 4°C离心 5min; 弃上清,留沉淀,向沉淀中加入经预冷的纯乙醇混匀,4°C放置 10min; 12000rpm, 4°C离心 5min; 弃上清,留沉淀。再向沉淀中加入 1mL 经预冷提取液,涡旋混匀,12000rpm, 4°C离心 10min; 上清液置冰上待测。

##### ② 液体样本:

若液体澄清可直接检测;若浑浊则 12000rpm, 4°C离心 10min,取上清置冰上待测。

#### 2、上机检测:

① 紫外分光光度计预热 30min 以上,调节波长至 350nm,蒸馏水调零。

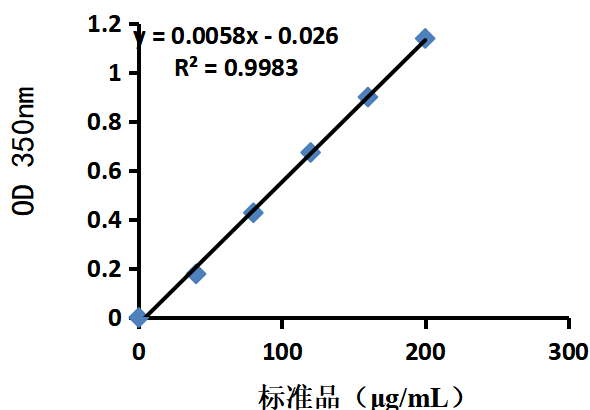
② 所有试剂解冻至室温(25°C)或于 25°C水浴锅中孵育 15-30min 中。

③ 在 EP 管中依次加入:

试剂名称 (μL)	测定管	对照管
样本	200	200
试剂一	30	30
试剂二	250	250
试剂三	20	
蒸馏水		20
混匀, 30°C 孵育 30min		
试剂四	220	220
混匀, 8000rpm 室温离心, 吸取上清液至 1mL 石英比色皿 (光径 1cm) 中, 于 350nm 处读值, $\Delta A = A$ 测定 - A 对照 (每个样本做一个自身对照)。		

## 五、结果计算:

1、标准曲线:  $y = 0.0058x - 0.026$ : x 为标准品即槲皮素-3-半乳糖苷( $\mu\text{g/mL}$ ), y 为  $\Delta A$ 。



2、按样本蛋白浓度计算:

定义: 每毫克组织蛋白每小时生成  $1\mu\text{g}$  标准品即槲皮素-3-半乳糖苷定义为一个酶活单位。

$$\text{UFGT}(\mu\text{g/h/mg prot}) = [(\Delta A + 0.026) \div 0.0058 \times V1] \div (V1 \times \text{Cpr}) \div T \times D = 345 \times (\Delta A + 0.026) \div \text{Cpr} \times D$$

3、按样本鲜重计算:

定义: 每克组织每小时生成  $1\mu\text{g}$  标准品即槲皮素-3-半乳糖苷定义为一个酶活单位。

$$\text{UFGT}(\mu\text{g/h/g 鲜重}) = [(\Delta A + 0.026) \div 0.0058 \times V1] \div (W \times V1 \div V) \div T \times D = 345 \times (\Delta A + 0.026) \div W \times D$$

4、按液体体积计算:

定义: 每毫升液体每小时生成  $1\mu\text{g}$  标准品即槲皮素-3-半乳糖苷定义为一个酶活单位。

$$\text{UFGT}(\mu\text{g/h/mL}) = [(\Delta A + 0.026) \div 0.0058 \times V1] \div V1 \div T \times D = 345 \times (\Delta A + 0.026) \times D$$

V---加入提取液体积, 1 mL;

V1---加入样本体积, 0.2mL;

W---样本质量, g;

T---反应时间, 30min=0.5h;

D---稀释倍数, 未稀释即为 1;

Cpr---蛋白浓度 ( $\text{mg/mL}$ ), 建议使用本公司的 BCA 蛋白含量测定试剂盒。