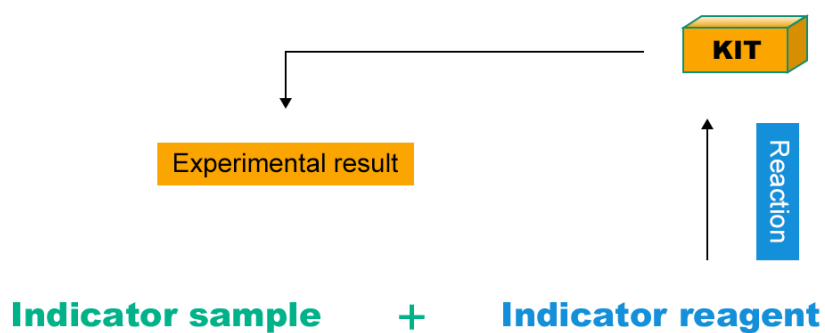


上海茁彩生物科技有限公司
ZCIBIO Technology Co., Ltd



生化检测原理示意图

Cat. NO: ZC-S0931

Size: 100T/96S

类黄酮糖基转移酶(UFGT) 检测试剂盒说明书

微量法

*正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定

一、测定意义:

花色苷是一类易溶于极性溶剂的天然色素,属黄酮类化合物。花色苷广泛存在于植物的根、茎、叶、花和果实中,使其呈现由红到紫等不同颜色,是植物主要的呈色物质。

类黄酮糖基转移酶(UDP-glycose flavonoid glycosyltransferase, UFGT) 是花色苷合成过程的最后一个酶, 可以把不稳定的花色素催化成花色苷, 在一定范围内, UFGT 活性与花色素苷的合成呈现正相关。

二、测定原理:

UFGT 催化 UDPG 与槲皮素生成 UDP; 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。

三、需自备的仪器和用品:

酶标仪、水浴锅、可调式移液器、96 孔板、研钵、冰和蒸馏水。

四、试剂的组成和配置:

种类	试剂规格	储存条件	使用方法及注意事项
提取液	液体 100mL×1 瓶	4℃保存	
试剂一	粉剂×1 瓶	-20℃避光保存	临用前加入 20mL 试剂四溶解
试剂二	粉剂×1 瓶	-20℃保存	
试剂三	液体 100 μL ×1 管	4℃避光保存	
试剂四	液体 50mL×1 瓶	4℃保存	

五、样品测定的准备:

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), 冰浴中匀浆。10000g, 4℃离心 10min, 取上清, 置冰上待测。

六、测定步骤

1. 在 EP 管中加入如下试剂

试剂名称 (μL)	测定管
样本	20
试剂一	180

混匀, 30℃反应 4h, 95℃水浴 5min 灭活, 冷却至室温。10000g 4℃离心 5min, 取反应液待测。

2. 工作液配制: 在试剂二中加入 20mL 试剂四溶解, 再加入 20 μL 试剂三, 混匀待用。用不完的工作液分装后-20℃保存一个月, 禁止反复冻融。

3. 在 96 孔板中加入如下试剂

反应液	20
工作液	180

混匀, 测定 340nm 下 1min 时吸光值 A1 与 6min 时吸光值 A2, $\Delta A = A1 - A2$ 。

七、UFGT 活力计算:

1、按照蛋白浓度计算

单位的定义: 每 mg 组织蛋白每分钟催化 1nmol NADH 定义为一个酶活力单位。

UFGT 活力 (nmol/min/mg prot) = $\Delta A \times V_{反总} \div (\epsilon \times d) \times 10^9 \div (V_{样} \times C_{pr}) \div T \times 10$

= $134 \times \Delta A \div C_{pr}$

2、按样本鲜重计算

单位的定义：每 g 组织每分钟催化 1nmol NADH 定义为一个酶活力单位。

$$\text{UFGT 活力 (nmol/min/g 鲜重)} = \Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9 \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T \times 10 = 134 \times \Delta A \div W$$

$V_{\text{反总}}$ ：反应体系总体积，0.2mL； ϵ ：NADPH 摩尔消光系数， $6.22 \times 10^3 \text{ L/mol/cm}$ ；
 d ：96 孔板光径，0.5cm； $V_{\text{样}}$ ：加入样本体积，0.02 mL； $V_{\text{样总}}$ ：加入提取液体积，1 mL；
 T ：反应时间，240 min；10，稀释倍数； C_{pr} ：样本蛋白质浓度，mg/mL； W ：样本质量；