

上海茁彩生物科技有限公司
Shanghai zcibio technology Co., Ltd.



生化检测原理示意图

UDPG焦磷酸化酶（UGP）检测试剂盒说明书

紫外分光光度法

正式测定前务必取2-3个预期差异较大的样本做预测定

测定意义

UDPG 焦磷酸化酶是生物体糖原合成过程中的关键酶。在葡萄糖合成糖原前催化葡萄糖活化，将 1-磷酸葡萄糖与 UTP 分子合成为 UDP-葡萄糖（UDPG）。

测定原理

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。

自备实验用品及仪器

天平、低温离心机、研钵、紫外分光光度计、1 mL 石英比色皿。

试剂组成和配制

种类	试剂规格	储存条件	使用方法及注意事项
提取液	液体 50mL×1 瓶	4℃保存	-
试剂一	液体 25mL×1 瓶	4℃避光保存	-
试剂二	粉剂×1 瓶	-20℃避光保存	临用前加 5mL 蒸馏水充分溶解
试剂三	粉剂×1 瓶	-20℃避光保存	临用前加 5 mL 蒸馏水充分溶解
试剂四	粉剂×1 瓶	-20℃避光保存	临用前加 5 mL 蒸馏水充分溶解
试剂五	液体 5mL×1 瓶	4℃保存	-

酶液提取

1. 组织：按照质量（g）：提取液体积（mL）为 1：5~10 的比例（建议称取约 0.1g，加入 1mL 提取液）加入提取液，冰浴匀浆后于 4℃，10000g 离心 10min，取上清置冰上待测。
2. 细胞：按照细胞数量（10⁴ 个）：提取液体积（mL）为 500~1000：1 的比例（建议 500 万细胞加入 1mL 提取液），冰浴超声波破碎细胞（功率 300w，超声 3 秒，间隔 7 秒，总时间 3min）；然后 4℃，10000g 离心 10min，取上清置冰上待测。
3. 液体：直接检测。

测定操作

1. 分光光度计预热 30min，调节波长至 340nm，蒸馏水调零。
2. 取 1mL 石英比色皿，依次加入 500 μL 试剂一，100 μL 试剂二，100 μL 试剂三，100 μL 试剂四，100 μL 试剂五，100 μL 粗酶液，充分混匀，记录 340nm 处 30s 的吸光值 A1 和 330s 的吸光值 A2， $\Delta A = A2 - A1$

计算公式

(1) 按照样本蛋白浓度计算

酶活单位定义：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。

$$\text{UGP (nmol/min /mg prot)} = \Delta A \div (\epsilon \times d) \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \times \text{Cpr}) \div T = 321.54 \times \Delta A \div \text{Cpr}$$

(2) 按照样本质量计算

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

$$\text{UGP (nmol/min /g)} = \Delta A \div (\epsilon \times d) \times V_{\text{反总}} \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 321.54 \times \Delta A \div W$$

(3) 按照细胞数量计算

酶活单位定义：每 10^4 个细胞每分钟消耗 1 nmol 的 NADP 定义为一个酶活力单位。

$$\text{UGP (nmol/min /}10^4 \text{ cell)} = \Delta A \div (\epsilon \times d) \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \times \text{细胞数量} \div V_{\text{样总}}) \div T$$

(4) = $321.54 \times \Delta A \div \text{细胞数量}$ 按照液体体积计算

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

$$\text{UGP (nmol/min/mL)} = \Delta A \div (\epsilon \times d) \times V_{\text{反总}} \div V_{\text{样}} \div T = 321.54 \times \Delta A$$

$V_{\text{反总}}$ ：反应体系总体积，1mL； ϵ ：NADPH 摩尔消光系数， $6.22 \times 10^3 \text{ L / mol /cm}$ ； d ：比色皿光径，1cm； $V_{\text{样}}$ ：加入样本体积，0.1mL； $V_{\text{样总}}$ ：加入提取液体积，1mL； T ：反应时间，5 min； Cpr ：样本蛋白质浓度，mg/mL； W ：样本质量，g

注意事项

配制好的试剂二、试剂三、试剂四 3 天内使用完。