

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

### 试剂盒说明书

#### 分光光度法 50 管/48 样

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。

#### 组成:

产品名称	GCS007-50/48S	Storage
提取液: 液体	50ml	4°C
试剂一: 液体	25ml	4°C避光
试剂二: 粉剂	1 瓶	-20°C避光
试剂三: 粉剂	1 瓶	-20°C避光
试剂四: 粉剂	1 瓶	-20°C避光
试剂五: 液体	5ml	4°C
说明书	一份	

试剂二: 粉剂×1 瓶, -20°C避光保存。临用前加 5mL 蒸馏水充分溶解; 用不完的试剂分装后-20°C保存, 禁止反复冻融。

试剂三: 粉剂×1 瓶, -20°C避光保存。临用前加 5 mL 蒸馏水充分溶解; 用不完的试剂分装后-20°C保存, 禁止反复冻融。

试剂四: 粉剂×1 瓶, -20°C避光保存。临用前加 5 mL 蒸馏水充分溶解; 用不完的试剂分装后-20°C保存, 禁止反复冻融。

#### 自备仪器和用品:

天平、低温离心机、研钵、紫外分光光度计、1 ml 石英比色皿。

#### 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

最终解释权所有 © 伊势久 (江苏连云港) 生物科技有限责任公司, 保留一切权利



提取液，冰浴匀浆后于 4°C，10000g 离心 10min，取上清置冰上待测。

2. 细胞：按照细胞数量 ( $10^4$  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°C，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 $\mu$ l 试剂一，100 $\mu$ l 试剂二，100 $\mu$ l 试剂三，100 $\mu$ l 试剂四，100 $\mu$ l 试剂五，100 $\mu$ l 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。

$$\text{UGP (nmol/min /mg prot)} = [\Delta A \div (\epsilon \times d) \times V_{\text{反总}} \times 10^9] \div (V_{\text{样}} \times \text{Cpr}) \div T = 321.54 \times \Delta A \div \text{Cpr}$$

#### (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。

$$\text{UGP (nmol/min /g 鲜重)} = [\Delta A \div (\epsilon \times d) \times V_{\text{反总}} \times 10^9] \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 321.54 \times \Delta A \div W$$

#### (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。

$$\begin{aligned} \text{UGP (nmol/min /} 10^4 \text{ cell)} &= [\Delta A \div (\epsilon \times d) \times V_{\text{反总}} \times 10^9] \div (500 \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T \\ &= 0.643 \times \Delta A \end{aligned}$$

#### (4) 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。

$$\text{UGP (nmol/min/ml)} = [\Delta A \div (\epsilon \times d) \times V_{\text{反总}} \times 10^9] \div V_{\text{样}} \div T = 321.54 \times \Delta A$$

V 反总：反应体系总体积， $1 \times 10^{-3}$  L； $\epsilon$ ：NADPH 摩尔消光系数， $6.22 \times 10^3$  L / mol / cm；d：比色皿光径，1cm；V 样：加入样本体积，0.1ml；V 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；500：细胞或细菌总数，500 万。

