

UDP-glucose flavonoid glycosyltransferase Activity Assay Kit

类黄酮糖基转移酶 (UFGT) 试剂盒说明书

货号:BN72333| 方法: 紫外分光法 | 规格: 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, 即可计算得出该酶活性大小。

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℃保存	
试剂一	粉剂 mg×2 支	4℃保存	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℃保存	
试剂三	粉剂 mg×1 支	-20℃保存	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℃保存。
试剂四	粉剂 g×2 瓶	4℃保存	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℃冰箱) 放置 10min; 12000rpm, 4℃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℃放置 10min; 12000rpm, 4℃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℃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℃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℃) 或于 25℃水浴锅中孵育 15-30min 中。

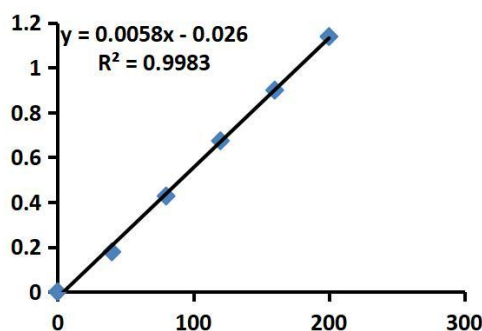
③ 在 EP 管中依次加入:

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, $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ (每个样本做一个自身对照)。		

注意：本操作流程适用于绝大多数常规样本检测，实验条件可根据实际样本状态适度微调；针对特殊类型样本，我司技术支持可提供专属优化建议。

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(μg/mL)， y 为 ΔA 。



标准曲线示意图

说明：标准曲线由标准品测定获得，具体制作方法详见随货说明书或咨询技术支持。

2、按样本蛋白浓度计算：

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

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

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 (mg/mL)，建议使用本公司的 BCA 蛋白含量测定试剂盒。