

ADPG 焦磷酸化酶(AGP)活性检测试剂盒（紫外分光光度法）

ADPG Pyrophosphorylase Assay Kit (UV Spectrophotometry)

产品描述

腺苷二磷酸葡萄糖焦磷酸化酶 (ADP-glucose pyrophorylase, ADPase, AGP) (EC 2.7.7.21) 是植物合成淀粉和微生物合成糖原的一个限速酶，催化由 1-磷酸葡萄糖与 ATP 反应形成腺苷二磷酸葡萄糖 (ADPG) 并释放能量的反应。了解 AGPase 对研究淀粉含量有重要的价值。

检测原理

腺苷二磷酸葡萄糖焦磷酸化酶 (AGPase) 催化 1-磷酸葡萄糖生成 ADPG。AGPase 催化逆向反应生成 1-磷酸葡萄糖，添加磷酸己糖变位酶和 6-磷酸葡萄糖脱氢酶，可生成 6-磷酸葡萄糖酸和 NADPH。在 340nm 下测定 NADPH 增加速率，可计算出 AGPase 活性。

产品组成及储存条件

50T/48S 规格的产品组成如下：

组成	规格	储存条件
CB0015UV-ES	60mL×1 瓶	4℃保存。
CB0015UV-A	20mL×1 瓶	4℃保存。
CB0015UV-B	粉剂×2 支	4℃保存；临用前每支加入 250μL 蒸馏水充分溶解备用；剩余试剂仍 4℃保存。
CB0015UV-C	粉剂×1 瓶	4℃保存；临用前加入 3mL 蒸馏水充分溶解备用；剩余试剂仍 4℃保存。
CB0015UV-D	粉剂×2 瓶	4℃保存；临用前每瓶加入 3mL 蒸馏水充分溶解备用；剩余试剂仍 4℃保存。
CB0015UV-E	粉剂×2 瓶	-20℃保存；临用前每瓶加入 3mL 蒸馏水充分溶解备用；剩余试剂仍 -20℃保存。
CB0015UV-F	粉剂×2 支	-20℃保存；临用前每支加入 250μL 蒸馏水充分溶解备用；剩余试剂仍 4℃保存。
CB0015UV-G	粉剂×2 支	-20℃保存；临用前每支加入 250μL 蒸馏水充分溶解备用；剩余试剂仍 4℃保存。

注：正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定。

操作说明

一、自备用品：

紫外分光光度计、水浴锅、台式离心机、可调式移液器、1mL 石英比色皿、研钵、冰和蒸馏水。

二、粗酶液提取：

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 CB0015UV-ES），进行冰浴匀浆。10000g 4℃离心 10min，取上清，置冰上待测。

三、测定步骤：

- 分光光度计预热 30min 以上，调节波长至 340nm，蒸馏水调零。
- CB0015UV-A 在 30℃水浴锅中预热 10 min 以上。
- 在 1mL 玻璃比色皿中依次加入下列试剂（如果一次性测定样本较多，可以将 CB0015UV-A、B、C 和 D 按比例配成混合液 1，将 CB0015UV-A、E、F 和 G 按比例配成混合液 2）：

试剂名称	测定管 (μL)
CB0015UV-A	100
CB0015UV-B	10
CB0015UV-C	50
CB0015UV-D	100
样本	20
混匀，30℃保温 15 min，置沸水浴中 1 min（盖紧，防止水分散失），冰浴迅速冷却。	
CB0015UV-A	300
CB0015UV-E	100
CB0015UV-F	10
CB0015UV-G	10
混匀后立即在 340 nm 波长下记录初始吸光度 A1 和 2min 后的吸光度 A2，计算 $\Delta A = A2 - A1$ 。	

四、AGP 酶活性计算公式：

1. 按样本蛋白浓度计算

单位的定义：每 mg 组织蛋白每分钟催化产生 1nmol NADPH 定义为一个酶活性单位。

$$AGP \text{ (nmol/min/mg prot)} = [\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (V_{\text{样}} \times C_{\text{pr}}) \div T = 2813 \times \Delta A \div C_{\text{pr}}$$

2. 按照样本鲜重计算

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

$$AGP \text{ (nmol/min/g 鲜重)} = [\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 2813 \times \Delta A \div W$$

注： $V_{\text{反总}}$ ：反应体系总体积， 7×10^{-4} L； ϵ ：NADPH 摩尔消光系数， 6.22×10^3 L / mol / cm； d ：比色皿光径，1cm； $V_{\text{样}}$ ：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，2 min； C_{pr} ：样本蛋白质浓度，mg/mL； W ：样本质量。

注意事项

1. 蛋白定量测定，建议使用 TargetMol 生产的 BCA Protein Quantification Kit (C0050)。
2. 本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品，不得存放于普通住宅内。
3. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

