

# 使用说明书

## Instruction Manual

# ADPG 焦磷酸化酶(AGP)活性检测试剂盒 (可见分光光度法) ADPG Pyrophosphorylase Assay Kit (Visible Spectrophotometry)

## 产品描述

腺苷二磷酸葡萄糖焦磷酸化酶 (ADP-glucose pyrophosphorylase, 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
CB0015V-ES	60mL×1 瓶	4°C保存。
CB0015V-A	20mL×1 瓶	4°C保存。
CB0015V-B	粉剂×2 支	4°C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°C保存。
CB0015V-C	粉剂×1 瓶	4°C保存; 临用前加入 3mL 蒸馏水充分溶解备用; 剩余试剂仍 4°C保存。
CB0015V-D	粉剂×2 瓶	4°C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°C保存。
CB0015V-E	粉剂×2 瓶	-20°C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°C保存。
CB0015V-F	粉剂×2 支	-20°C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°C保存。
CB0015V-G	粉剂×2 支	-20°C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°C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、1 mL 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 1mLCB0015V-ES), 进行冰浴匀浆。10000g 4°C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。
- CB0015V-A 在 30°C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 CB0015V-A、B、C 和 D 按比例配成混合液 1, 将 CB0015V-A、E、F 和 G 按比例配成混合液 2):

试剂名称	测定管 (μL)
CB0015V-A	100
CB0015V-B	10
CB0015V-C	50
CB0015V-D	100
样本	20
混匀, 30°C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。	
CB0015V-A	300
CB0015V-E	100
CB0015V-F	10
CB0015V-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。

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

##### 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。

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

**注:**  $V_{\text{反总}}$ : 反应体系总体积,  $7 \times 10^{-4}$  L;  $\epsilon$ : NADPH 摩尔消光系数,  $6.22 \times 10^3$  L / mol / cm;  $d$ : 比色皿光径, 1cm;  $V_{\text{样}}$ : 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;  $C_{\text{pr}}$ : 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。

