

ADPG 焦磷酸化酶(AGP)活性检测试剂盒

ADPG Pyrophosphorylase Assay Kit

可见分光光度法

货号: AK264

规格: 50T/48S

产品组成及保存条件:

编号	规格	储存条件
提取液 ES36	60mL×1 瓶	4℃保存;
AK264-A	20mL×1 瓶	4℃保存;
AK264-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;
AK264-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;
AK264-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;
AK264-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;
AK264-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;
AK264-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;

※ 正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定。

简介:

意义: 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。

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, 添加磷酸已糖变位酶和 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。

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。

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 提取液 ES36), 进行冰浴匀浆。10000g 4℃离心 10min, 取上清, 置冰上待测。

测定步骤

1. 分光光度计预热 30min 以上, 调节波长至 340nm, 蒸馏水调零。
2. AK264-A 在 30℃水浴锅中预热 10 min 以上。
3. 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 AK264-A、B、C 和 D 按比例配成混合液 1, 将 AK264-A、E、F 和 G 按比例配成混合液 2)

试剂名称	测定管 (μL)
AK264-A	100

AK264-B	10
AK264-C	50
AK264-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。	
AK264-A	300
AK264-E	100
AK264-F	10
AK264-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 $\Delta A = A2 - A1$ 。	

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。

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

※ 蛋白定量检测建议使用本公司：BCA Protein Assay Kit (C05-02001)

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。