

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。