

类黄酮糖基转移酶（UDP-glycose flavonoid glycosyltransferase, UFGT）

试剂盒说明书

（货号：BP10464F 分光法 24 样 有效期：3 个月）

一、指标介绍：

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，即可计算出该酶活性大小。

二、试剂盒组成和配制：

试剂组分	试剂规格	存放温度	注意事项
提取液	液体 30mL×1 瓶	4℃保存	
试剂一	粉剂 2 支	4℃避光保存	每支： 1. 临用前 8000g 4℃离心 2min 使试剂落入管底； 2. 加 1mL 乙醇溶解备用； 3. 保存周期与试剂盒有效期相同。
试剂二	液体 15mL×1 瓶	4℃保存	
试剂三	粉剂 1 支	-20℃避光保存	1. 临用前 8000g 4℃离心 2min 使试剂落入管底； 2. 加 0.6mL 蒸馏水溶解备用； 3. 用不完的试剂分装后-20℃保存。
试剂四	粉剂 2 瓶	4℃保存	每瓶： 1. 开盖前注意使粉体落入底部（可手动甩一甩）； 2. 加入 15mL 甲醇溶解备用； 3. 保存周期与试剂盒有效期相同。

三、实验器材：

研钵（匀浆机）、冰盒（制冰机）、台式离心机、可调式移液枪、水浴锅（烘箱、培养箱、金属浴）、1ml 石英比色皿、离心管、分光光度计、无水乙醇、甲醇、蒸馏水（去离子水、超纯水均可）。

四、指标测定：

建议先选取 1-3 个差异大的样本（例如不同类型或分组）进行预实验，熟悉操作流程，根据预实验结果确定或调整样本浓度，以防造成样本或试剂不必要的浪费！

1、样本提取：

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、检测步骤：

① 分光光度计预热 30min 以上，调节波长至 350nm。

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：

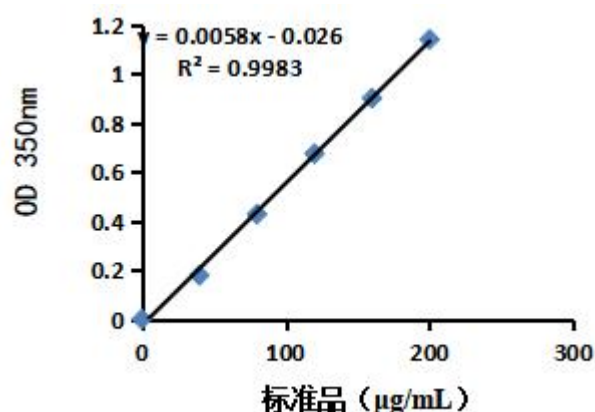
试剂组分 (μL)	测定管	对照管
样本	200	200
试剂一	30	30
试剂二	250	250
试剂三	20	
蒸馏水		20
混匀，30℃孵育 30min		
试剂四	220	220
混匀，8000rpm 室温离心，吸取上清液至 1mL 石英比色皿（光径 1cm）中，于 350nm 处读值， $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ （每个样本做一个自身对照）。		

【注】1. 若 ΔA 值在零附近徘徊，可增加样本加样量 V_1 （如增至 300μL，则试剂二减少至 150μL），或增加样本取样质量 W ，则改变后的 V_1 和 W 需代入公式重新计算。

2. 若 A 测定太大如超过 2，可用试剂四对 8000rpm 离心后的上清液进行稀释（如取离心后上清液 350μL 至比色皿中，再加 350μL 的试剂四，即相当于稀释 2 倍），则稀释倍数 D 则需代入计算公式重新计算。

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 。



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。

$$UFGT(\mu g/h/mg \text{ prot}) = [(\Delta A + 0.026) \div 0.0058 \times V_1] \div (V_1 \times C_{pr}) \div T \times D = 345 \times (\Delta A + 0.026) \div C_{pr} \times D$$

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。

$$UFGT(\mu g/h/g \text{ 鲜重}) = [(\Delta A + 0.026) \div 0.0058 \times V_1] \div (W \times V_1 \div V) \div T \times D = 345 \times (\Delta A + 0.026) \div W \times D$$

4、按液体体积计算：

定义：每毫升液体每小时生成 1 μ g 标准品即槲皮素-3-半乳糖苷定义为一个酶活单位。

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

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。