



类黄酮糖基转移酶（UFGT）活性检测试剂盒说明书

紫外分光光度法

货号：BC5660

规格：50T/48S

产品内容：使用前请认真核对试剂体积与瓶内体积是否一致，有疑问请及时联系索莱宝工作人员。

试剂名称	规格	保存条件
提取液	液体 60 mL×1 瓶	2-8℃保存
粉剂一	粉剂×1 瓶	2-8℃保存
试剂一	液体 70 mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂二	液体 1.5 mL×1 支	-20℃保存
试剂三	粉剂×1 瓶	-20℃保存
试剂四	液体 150 μL×1 支	2-8℃保存
试剂五	液体 60 μL×1 支	2-8℃保存
试剂六	粉剂×1 瓶	-20℃保存
试剂七	粉剂×1 瓶	-20℃保存

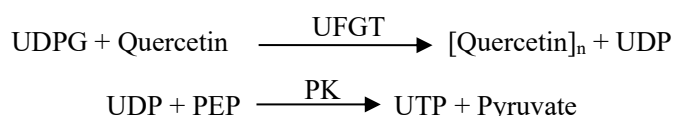
溶液的配制：

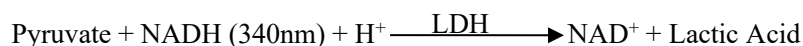
- 1、提取液：临用前将粉剂一倒入提取液中，此溶液为悬浊液，使用前摇匀即可；
- 2、试剂二工作液：临用前根据样本数量按照试剂一：试剂二=855μL:45μL（900μL，2T）的比例配制，充分混匀，现配现用；
- 3、试剂三：临用前加入 30 mL 蒸馏水溶解，未用完的试剂分装保存，-20℃保存可以保存 4 周，避免反复冻融；
- 4、试剂六：临用前加入 10 mL 蒸馏水溶解，未用完的试剂分装保存，-20℃保存可以保存 4 周，避免反复冻融；
- 5、试剂七：试剂放于试剂瓶内玻璃瓶中。临用前加入 9 mL 蒸馏水溶解，未用完的试剂分装保存，-20℃保存可以保存 4 周，避免反复冻融；
- 6、工作液：临用前根据样本数量按照试剂一：试剂四：试剂五：试剂六：试剂七=1.4mL：5μL：2μL：0.3 mL：0.3 mL（2007μL，约 2T）的比例配制，充分混匀，现配现用。（试剂四、试剂五使用前需先将液体离心至底部使用）

产品说明：

类黄酮糖基转移酶（UDP-glycose flavonoid glycosyltransferase, UFGT）是莽草酸途径的最后一个作用酶，也是使花色苷形成稳定的花色苷的第一个作用酶，并使其由无色转为有色；UFGT 是果实着色过程中的关键酶，它使不稳定的花色苷转变为稳定的花色苷。

UFGT 催化 UDPG 与槲皮素生成 UDP 和槲皮素糖苷；UDP 在丙酮酸激酶与乳酸脱氢酶作用下，氧化 NADH 为 NAD⁺，NAD⁺生成速度与 UDP 含量成正比，通过 340nm 吸光度下降速度反映 UFGT 活性。





注意：实验之前建议选择 2-3 个预期差异大的样本做预实验。如果样本吸光值不在测量范围内建议稀释或者增加样本量进行检测。

需自备的仪器和用品：

紫外分光光度计、低温离心机、水浴锅/恒温培养箱、分析天平、可调式移液器、1mL 石英比色皿、研钵/匀浆器、蒸馏水和冰。

操作步骤：

一、样本处理（可适当调整待测样本量，具体比例可以参考文献）

1、组织：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），进行冰浴匀浆。10000g 4℃离心 10min，取上清，置冰上待测。

二、测定步骤

1、紫外分光光度计预热 30min 以上，调节波长至 340nm，蒸馏水调零。

2、加样表：首先在 1.5mLEP 管中按下表步骤加样：

试剂名称（ μL ）	测定管	空白管
样本	100	-
蒸馏水	-	100
试剂二工作液	450	450
试剂三	450	450
混匀，30℃反应 4h，95℃水浴 10 min 灭活，冷却至室温。10000g 4℃离心 5min，取上清液待测。（在此期间将工作液 37℃预热 5min）		
上清液	100	100
工作液	900	900
将上清液和工作液分别加入 1mL 石英比色皿中，立即充分混匀后于 340nm 处测定 10s 时的吸光值 A1，迅速置于 37℃水浴锅或者恒温培养箱中反应 2min，拿出迅速擦干测定 2min10s 时的吸光值 A2，记录 340nm 下 10s 时吸光值 A1 和 2min 后的吸光值 A2。计算 A 测定=A1 测定-A2 测定，A 空白=A1 空白-A2 空白， $\Delta A = A$ 测定-A 空白。空白管只需做 1-2 次。		

三、类黄酮糖基转移酶（UFGT）活力计算

1、按照蛋白浓度计算

单位的定义：每 mg 组织蛋白每小时催化 1nmol NADH 定义为一个酶活力单位。

$$\text{UFGT 活力(U/mg prot)} = \Delta A \times V \text{ 反总 II} \div (\epsilon \times d) \times 10^9 \div (\text{Cpr} \times V \text{ 样} \div V \text{ 反总 I} \times V \text{ 上清}) \div T \times F$$

$$= 4019.29 \times \Delta A \div \text{Cpr} \times F$$

2、按样本质量计算

单位的定义：每 g 组织每小时催化 1nmol NADH 定义为一个酶活力单位。

$$\text{UFGT 活力(U/g 质量)} = \Delta A \times V \text{ 反总 II} \div (\epsilon \times d) \times 10^9 \div (W \times V \text{ 样} \div V \text{ 样总} \div V \text{ 反总 I} \times V \text{ 上清}) \div T \times F$$

$$= 4019.29 \times \Delta A \div W \times F$$

V 反总 I：30℃第一步反应体系总体积（V 样+ V 试剂二工作液+V 试剂三），1 mL；V 反总 II：37℃第二步反应体系总体积， 1×10^{-3} L； ϵ ：NADPH 摩尔消光系数， 6.22×10^3 L/mol/cm；d：石英比色皿光径，1cm；V 样：加

入样本体积，0.1mL；V 上清：第二步反应中上清液体积，0.1 mL；V 样总：加入提取液体积，1 mL；T：反应时间，4h；Cpr：样本蛋白质浓度，mg/mL；W：样本质量，g；F：稀释倍数；10⁹：换算系数，1mol=10⁹nmol。

注意事项：

1、 如果 A1 测定<A1 空白或者 ΔA 大于 0.5，可以对上清液进行稀释或者缩短 30°C反应时间重新测定；ΔA 小于 0.005，可以加大样本量或者延长 30°C反应反应时间重新测定。最终计算时同步修改计算公式。

实验实例：

1、 称取 0.1078g 洋桔梗，加入提取液进行冰浴匀浆，按照测定步骤操作，用 1mL 石英比色皿测得计算 A 测定=A1 测定-A2 测定=1.07-1.038=0.032，A 空白=A1 空白-A2 空白=0.823-0.807=0.016，ΔA=A 测定-A 空白=0.016。带入公式计算：

$$\text{UFGT 活力(U/g 质量)} = 4019.29 \times \Delta A \div W = 596.56 \text{ U/g 质量}$$

2、 称取 0.1133g 洋葱，加入提取液进行冰浴匀浆，按照测定步骤操作，用 1mL 石英比色皿测得计算 A 测定=A1 测定-A2 测定=0.838-0.809=0.029，A 空白=A1 空白-A2 空白=0.823-0.807=0.016，ΔA =A 测定-A 空白=0.013。带入公式计算：

$$\text{UFGT活力(U/g 质量)} = 4019.29 \times \Delta A \div W = 461.17 \text{ U/g 质量}$$

参考文献：

[1] Parvaneh, TaherehAbedi, BahramDavarynejad, Gholam HosseinMoghadam, Ebrahim Ganji. Enzyme activity, phenolic and flavonoid compounds in leaves of Iranian red flesh apple cultivars grown on different rootstocks[J]. Scientia horticulturae, 2019, 246.

[2] Mori K, Sugaya S, Gemma H. Decreased anthocyanin biosynthesis in grape berries grown under elevated night temperature condition[J]. Hort, 2005, 105(3):319-330.

相关系列产品：

- BC1350/BC1355 植物原花青素（OPC）含量检测试剂盒
- BC4090/BC4095 花青素还原酶（ANR）活性检测试剂盒
- BC1380/BC1385 植物花色苷含量检测试剂盒

