

腺苷二磷酸葡萄糖焦磷酸化酶（ADP-glucose pyrophosphorylase,

AGP）活性测定试剂盒说明书

（货号：JL-T0626 分光法 48 样）

一、产品简介：

ADPG 焦磷酸化酶(AGP, EC 2.7.7.27)是植物淀粉合成过程中起关键性调节作用的酶，催化 1-磷酸葡萄糖(G-1-P)与三磷酸腺苷(ATP)反应形成淀粉合成的直接前体腺苷二磷酸葡萄糖(ADPG)，在植物中，主要存在于贮藏器官和叶片中。

AGP 催化的逆向反应生成 G1P，在反应体系中添加的磷酸己糖变位酶和 6-磷酸葡萄糖脱氢酶依次催化生成 6-磷酸葡萄糖酸和 NADPH，340nm 下测定 NADPH 增加速率，即可计算 AGP 活性。

二、试剂盒组成和配制：

试剂名称	规格	保存要求	备注
提取液	液体60mL×1瓶	4℃保存	
试剂一	粉体mg×1支	-20℃保存	临用前甩几下使粉体落入底部，再加1.1mL蒸馏水溶解，仍-20℃保存。
试剂二	粉体mg×1支	4℃保存	临用前甩几下使粉体落入底部，再加1.1mL蒸馏水溶解。仍4℃保存。
试剂三	液体32mL×1瓶	4℃保存	
试剂四	粉体mg×1支	-20℃保存	临用前甩几下使粉体落入底部，再加 2.1mL 蒸馏水溶解，仍-20℃保存。

三、所需的仪器和用品：

可见分光光度计、1ml 石英比色皿（光径 1cm）、水浴锅、台式离心机、可调式移液器、研钵、冰和蒸馏水。

四、腺苷二磷酸葡萄糖焦磷酸化酶（AGP）活性测定：

建议正式实验前选取 2 个样本做预测定，了解本批样品情况，熟悉实验流程，避免实验样本和试剂浪费！

1、样本制备：

① 组织样本：

称取约 0.1g 组织（水分充足的样本可取 0.2g），加 1mL 提取液，进行冰浴匀浆，12000rpm，4℃离心 10min，取上清，置冰上待测。

② 液体样品：澄清的液体样本直接检测；若浑浊则离心后取上清液检测。

2、上机检测：

① 可见分光光度计预热 30min 以上，调节波长至 340nm，设定温度为 30℃，蒸馏水调零。

② 所有试剂解冻至室温（25℃），在 1mL 石英比色皿（光径 1cm）中依次加入：

试剂名称（μL）	测定管
样本	100
试剂一	20
试剂二	20
试剂三	540
轻轻混匀，30℃孵育 10min。	
试剂四	40
轻轻混匀，反应开始，30℃条件下，1min 后在 340nm 处	

读取吸光值 A1, 30min 后读取 A2, $\Delta A = A2 - A1$ 。

五、结果计算：

1、按样本蛋白浓度计算：

酶活定义：每毫克组织蛋白每分钟催化产生 1nmol NADPH 定义为一个酶活性单位。

$$AGP(\text{nmol}/\text{min}/\text{mg prot}) = [\Delta A \div (\epsilon \times d) \times V2 \times 10^9] \div (V1 \times Cpr) \div T = 38.6 \times \Delta A \div Cpr$$

2、按照样本鲜重计算：

酶活定义：每克组织每分钟催化产生 1nmol NADPH 定义为一个酶活力单位。

$$AGP(\text{nmol}/\text{min}/\text{g 鲜重}) = [\Delta A \div (\epsilon \times d) \times V2 \times 10^9] \div (W \times V1 \div V) \div T = 38.6 \times \Delta A \div W$$

3、按照液体体积计算：

酶活定义：每毫升液体每分钟催化产生 1nmol NADPH 定义为一个酶活力单位。

$$AGP(\text{nmol}/\text{min}/\text{mL}) = [\Delta A \div (\epsilon \times d) \times V2 \times 10^9] \div V1 \div T = 38.6 \times \Delta A$$