

磷酸葡萄糖变位酶 (PGM)试剂盒（微板法）

产品货号：BA2709

产品规格：96样

产品简介：

磷酸葡萄糖变位酶(PGM)在碳水化合物代谢中起关键作用，并广泛存在于所有生物体中。PGM可使葡萄糖-1-磷酸(G1P)和葡萄糖-6-磷酸(G6P)互变。当糖原分解时，PGM将G1P转化为G6P，接着进入糖酵解途径产生ATP，也可通过戊糖磷酸途径产生核糖和NADPH。相反，当细胞需要能量时，PGM将G6P转化为G1P，进而产生糖原。PGM的缺乏可导致与葡萄糖存储相关的疾病。

本试剂盒提供一种简单，灵敏，快速的测定方法：PGM将葡萄糖-1-磷酸转化为葡萄糖-6-磷酸；葡萄糖-6-磷酸通过葡萄糖-6-磷酸脱氢酶氧化形成NADPH，接着与特异显色剂反应生成有色物质，通过检测该有色物在450nm的增加速率，进而计算出PGM酶活性大小。

产品内容：

试剂名称	规格	保存要求	备注
提取液	液体100mL×1瓶	2-8℃	
试剂一	粉剂mg×1支	-20℃	临用前甩几下使粉剂全部落入底部，加入1.1mL蒸馏水混匀溶解备用。
试剂二	粉剂mg×1支	2-8℃	临用前甩几下使粉剂全部落入底部，加入1.1mL蒸馏水混匀溶解备用。
试剂三	液体1mL×1支	2-8℃	
试剂四	液体15mL×1瓶	2-8℃	
试剂五	粉剂mg×1支	-20℃	临用前甩几下使粉剂全部落入底部，加入1.1mL蒸馏水混匀溶解备用。
标准品	粉剂mg×1支	-20℃	若重新做标曲，则用到该试剂。

所需的仪器和用品：

酶标仪、96孔板、台式离心机、水浴锅、可调式移液器、研钵、冰。

磷脂酸磷酸酯酶(PPase)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，加入1mL提取液，进行冰浴匀浆。12000rpm、4℃离心15min，取上清作为待测样本。

【注】：若增加样本量，可按照组织质量(g):提取液体积(mL)为1:5~10的比例进行提取。

② 细胞样本：

先收集细胞到离心管内，离心后弃上清；取500万细胞加入1mL提取液；超声波破碎细胞(冰浴，功率20%或200W，超声3s，间隔10s，重复30次)；12000rpm、4℃离心10min，取上清液作为待测样本。

【注】：若增加样本量，可按照细菌/细胞数量(10^4):提取液(mL)为500~1000:1的比例进行提取。

③ 液体样本:澄清的液体样本直接检测，若浑浊可12000rpm、4℃离心10min，取上清液作为待测样本。

2、上机检测：

① 酶标仪预热30min以上，设置温度37℃，调节波长至450nm。

② 所有试剂于37℃条件下水浴5-10min：

③ 在96孔板中依次加入：



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司

Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话：400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱：saintbio@126.com

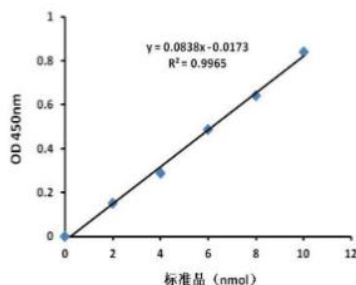
http://www.saint-bio.com

试剂名称 (μL)	测定管
样本	10
试剂一	10
试剂二	10
试剂三	10
试剂四	150
混匀, 37°C条件下孵育10min	
试剂五	10
混匀, 37°C条件下, 1min时于450nm处读取吸光值 A1, 11min时读取A2, $\Delta A = A2 - A1$ 。	

【注】：1. 若 ΔA 过小，可以延长反应时间T(如：21min或更长)再读取A2，或增加样本量V1(如增至20μL，则试剂四相应减小)，重新调整的反应时间T和V1需代入计算公式重新计算。
2. 若A2值大于1.5，可缩减反应时间T(如：6min或更短)再读取A2，或减少样本量V1(如减至5μL，则试剂四相应增加)，重新调整的反应时间T和V1需代入计算公式重新计算。

结果计算：

1. 标准曲线方程： $y = 0.0838x - 0.0173$ ，x是标准品摩尔质量；nmol，y是 ΔA 。



2. 按样本蛋白浓度计算：

单位定义：每毫克组织蛋白每分钟使1nmol NADP⁺转换成1nmol NADPH为一个酶活单位。

$$PGM(\text{nmol/min/mg prot}) = [(\Delta A + 0.0173) \div 0.0838] \div (V1 \times Cpr) \div T = 119.3 \times (\Delta A + 0.0173) \div Cpr$$

3. 按样本鲜重计算：

单位定义：每克组织每分钟使1nmol NADP⁺转换成1nmol NADPH定义为一个酶活力单位。

$$PGM(\text{nmol/min/g 鲜重}) = [(\Delta A + 0.0173) \div 0.0838] \div (W \times V1 \div V) \div T = 119.3 \times (\Delta A + 0.0173) \div W$$

4. 按细胞数量计算：

单位定义：每10⁴个细胞每分钟使1nmol NADP⁺转换成1nmol NADPH定义为一个酶活单位。

$$PGM(\text{nmol/min/10}^4\text{cel}) = [(\Delta A + 0.0173) \div 0.0838] \div (500 \times V1 \div V) \div T = 0.24 \times (\Delta A + 0.0173)$$

5. 按液体体积计算：

单位定义：每毫升液体每分钟使1nmol NADP⁺转换成1nmol NADPH定义为一个酶活力单位。

$$PGM(\text{nmol/min/mL}) = [(\Delta A + 0.0173) \div 0.0838] \div V1 \div T = 119.3 \times (\Delta A + 0.0173)$$

V---加入提取液体积，1mL；V1---加入样本体积，0.01mL；W---样本质量，g；T---反应时间，10min；

Cpr---样本蛋白质浓度，mg/mL；建议使用本公司的BCA蛋白含量检测试剂盒。

附：标准曲线制作过程：

1. 制备标准品母液(1nmol/μL)：向标准品EP管里面加入0.6mL蒸馏水(母液需在两天内用且-20°C保存)。
2. 把母液稀释成六个浓度梯度的标准品：0、0.2、0.4、0.6、0.8、1.0nmol/μL。
3. 依据加样表操作，根据结果即可制作标准曲线。



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司

Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话：400-611-0007 13671551480

Q Q：807961520

邮箱：saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com