

## 磷酸葡萄糖变位酶 (PGM)试剂盒 (可见分光光度法)

产品货号: BA2708

产品规格: 48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60mL×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2mL×1支	2-8℃	
试剂四	液体32mL×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2.4mL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:

可见分光光度计、1mL玻璃比色皿(光径1cm)、台式离心机、水浴锅、可调式移液器、研钵、冰。

磷酸葡萄糖变位酶 (PGM)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 可见分光光度计预热30min以上,设置温度37℃,调节波长至450nm,蒸馏水调零。

② 所有试剂于37℃条件下水浴5min:

③ 在1mL玻璃比色皿(光径1cm)依次加入:



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址:郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话:400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱: zzybio@126.com

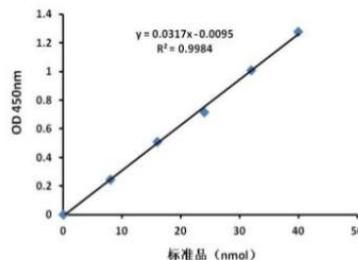
试剂名称 (μL)	测定管
样本	40
试剂一	20
试剂二	20
试剂三	40
试剂四	640
混匀, 37°C条件下孵育10min	
试剂五	40
混匀, 37°C条件下, 1min时于450nm处读取吸光值 A1, 11min时读取A2, $\Delta A = A2 - A1$ 。	

【注】：1. 若 $\Delta A$ 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80μL, 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20μL, 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:  $y = 0.0317x - 0.0095$ , x是标准品摩尔质量; nmol, y是 $\Delta A$ 。



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<sup>+</sup>转换成1nmol NADPH为一个酶活单位。

$$PGM(\text{nmol}/\text{min}/\text{mg prot}) = [(\Delta A + 0.0095) \div 0.0317] \div (V1 \times Cpr) \div T = 78.86 \times (\Delta A + 0.0095) \div Cpr$$

3. 按样本鲜重计算:

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

$$PGM(\text{nmol}/\text{min}/\text{g 鲜重}) = [(\Delta A + 0.0095) \div 0.0317] \div (W \times V1 \div V) \div T = 78.86 \times (\Delta A + 0.0095) \div W$$

4. 按细胞数量计算:

单位定义: 每10<sup>4</sup>个细胞每分钟使1nmol NADP<sup>+</sup>转换成1nmol NADPH定义为一个酶活单位。

$$PGM(\text{nmol}/\text{min}/10^4\text{cel}) = [(\Delta A + 0.0095) \div 0.0317] \div (500 \times V1 \div V) \div T = 0.158 \times (\Delta A + 0.0095)$$

5. 按液体体积计算:

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

$$PGM(\text{nmol}/\text{min}/\text{mL}) = [(\Delta A + 0.0095) \div 0.0317] \div V1 \div T = 78.86 \times (\Delta A + 0.0095)$$

V---加入提取液体积, 1mL; V1---加入样本体积, 0.04mL; 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

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址: 郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话: 400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱: zzlybio@126.com