

Phosphoglucose Mutase Activity Kit

磷酸葡萄糖变位酶（PGM）试剂盒说明书

货号: BN72348 | 方法: 可见分光法 | 规格: 48 样

一、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。

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	粉剂 mg×1 支	-20℃保存	临用前甩几下使粉剂落入底部，再加 1.1mL 蒸馏水充分溶解备用。
试剂二	粉剂 mg×1 支	4℃保存	临用前甩几下使粉剂落入底部，再加 1.1mL 蒸馏水充分溶解备用。
试剂三	液体 2mL×1 支	4℃保存	
试剂四	液体 32mL×1 瓶	4℃保存	
试剂五	粉剂 mg×1 支	-20℃保存	临用前甩几下使粉剂落入底部，再加 2.4mL 蒸馏水充分溶解备用。
标准品	粉剂 mg×1 支	-20℃保存	若重新做标曲，则用到该试剂

三、所需的仪器和用品:

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

四、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，置冰上待测。

【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）；4℃ 约 12,000rpm 离心 10min，取上清作为待测样品。

【注】：若增加样本量，可按照细菌/细胞数量（10⁴）：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:

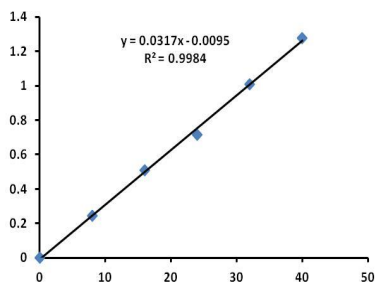
- ① 可见分光光度计预热 30min 以上，设置温度 37°C, 调节波长至 450nm，蒸馏水调零。
- ② 试剂放在 37°C 水浴 5min；
- ③ 在 1mL 玻璃比色皿（光径 1cm）中依次加入：

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， $\Delta A = A2 - A1$ 。	

注意：本操作流程适用于绝大多数常规样本检测，实验条件可根据实际样本状态适度微调；
针对特殊类型样本，我司技术支持可提供专属优化建议。

五、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 ΔA 。



标准曲线示意图

说明：标准曲线由标准品测定获得，具体制作方法详见随货说明书或咨询技术支持。

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。

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

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。

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

4、按细胞数量计算：

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

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

5、按液体体积计算：

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

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

V---加入提取液体积，1 mL；

V1---加入样本体积，0.04mL；

W---样本质量，g；

T---反应时间，10 min；

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。