

Glucose-6-phosphate Isomerase Assay Kits

磷酸葡萄糖异构酶（PGI）试剂盒说明书

货号:BN72350 | 方法: 紫外分光法 | 规格: 48 样

一、产品简介:

磷酸葡萄糖异构酶（PGI, EC5.3.1.9）能催化 6-磷酸果糖与 6-磷酸葡萄糖的相互转化，是呼吸作用中参与糖酵解途径的一种重要的胞内酶。

磷酸葡萄糖异构酶（PGI）催化6-磷酸果糖生成6-磷酸葡萄糖，接着在磷酸葡萄糖脱氢酶的作用下，使NADP⁺还原成NADPH，通过检测在340nm处的上升量来计算PGI酶活大小。

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	4℃保存	临用前甩几下使粉剂落入底部，再加 1.6mL 蒸馏水充分溶解备用。
试剂二	粉剂 mg×1 支	-20℃保存	临用前甩几下使试剂落入底部，再加 1.6mL 的蒸馏水溶解备用，可分装后-20℃保存，避免反复冻融。
试剂三	液体 27mL×1 瓶	4℃保存	
试剂四	粉剂 mg×1 支	-20℃保存	临用前甩几下使粉剂落入底部，再加 1.6mL 蒸馏水充分溶解备用。

三、所需的仪器和用品:

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

四、磷酸葡萄糖异构酶（PGI）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 10min，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 细菌/细胞样本:

先收集细菌或细胞到离心管内，离心后弃上清；取 500 万细菌或细胞加入 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，取上清置冰上待测。

【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。

2、上机检测:

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

② 所有试剂解冻至室温或于 30℃条件下水浴 5min。

③ 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	70
试剂一	30
试剂二	30
试剂三	540
混匀, 30°C下孵育 10min	
试剂四	30
混匀, 30°C下, 立即于 340nm 处读取吸光值 A1, 10min 后读取 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、按样本蛋白浓度计算：

单位定义：每毫克组织蛋白每分钟生成 1nmol NADPH 定义为一个酶活力单位。

$$PGI(\text{nmol/min/mg prot}) = [\Delta A \div (\epsilon \times d) \times V2 \times 10^9] \div (V1 \times Cpr) \div T = 160.8 \times \Delta A \div Cpr$$

2、按样本鲜重计算：

单位定义：每克组织每分钟生成 1nmol NADPH 定义为一个酶活力单位。

$$PGI(\text{nmol/min/g 鲜重}) = [\Delta A \div (\epsilon \times d) \times V2 \times 10^9] \div (W \times V1 \div V) \div T = 160.8 \times \Delta A \div W$$

3、按细胞数量计算：

单位定义：每 1 万个细胞每分钟生成 1nmol NADPH 定义为一个酶活力单位。

$$PGI(\text{nmol/min}/10^4 \text{ cell}) = [\Delta A \div (\epsilon \times d) \times V2 \times 10^9] \div (500 \times V1 \div V) \div T = 0.322 \times \Delta A$$

ϵ ---NADPH 摩尔消光系数, $6.22 \times 10^3 \text{ L/mol/cm}$;

d---光径, 1cm;

V---加入提取液体积, 1 mL;

V1---加入样本体积, 0.07mL;

V2---反应体系总体积, $7 \times 10^{-4} \text{ L}$;

T---反应时间, 10 min;

W---样本质量, g;

500---细胞数量, 万;

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。