

## Glucose-6-phosphate Isomerase Assay Kits

### 磷酸葡萄糖异构酶 (PGI) 试剂盒说明书

货号: G0868W | 方法: 微板法 | 规格: 96 样

#### 一、产品简介:

磷酸葡萄糖异构酶 (PGI, EC 5.3.1.9) 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  $\text{NADP}^+$  还原成  $\text{NADPH}$ , 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 100mL×1 瓶	4°C 保存	
试剂一	粉剂 mg×1 支	4°C 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	-20°C 保存	临用前甩几下使试剂落入底部, 再加 1.1mL 的蒸馏水溶解备用, 可分装后 -20°C 保存, 避免反复冻融。
试剂三	液体 15mL×1 瓶	4°C 保存	
试剂四	粉剂 mg×1 支	-20°C 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。

#### 三、所需的仪器和用品:

酶标仪、96 孔板、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°C 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°C 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 ( $10^4$ ): 提取液 (mL) 为 500~1000: 1 的比例进行提取。

##### 2、上机检测:

① 酶标仪预热 30min 以上, 设置温度 30°C, 调节波长至 340nm。

② 所有试剂解冻至室温或于 30°C 条件下水浴 5min。

③ 在 96 孔板中依次加入:

试剂名称 (μL)	测定管
样本	20
试剂一	10
试剂二	10
试剂三	150
混匀, 30°C下孵育 10min	
试剂四	10
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。

$$PGI(\text{nmol/min/mg prot}) = [\Delta A \div (\epsilon \times d) \times V2 \times 10^9] \div (V1 \times Cpr) \div T = 321.5 \times \Delta A \div Cpr$$

### 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。

$$PGI(\text{nmol/min/g 鲜重}) = [\Delta A \div (\epsilon \times d) \times V2 \times 10^9] \div (W \times V1 \div V) \div T = 321.5 \times \Delta A \div W$$

### 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。

$$PGI(\text{nmol/min}/10^4 \text{ cell}) = [\Delta A \div (\epsilon \times d) \times V2 \times 10^9] \div (500 \times V1 \div V) \div T = 0.643 \times \Delta A$$

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

d---96 孔板光径, 0.5cm;

V---加入提取液体积, 1 mL;

V1---加入样本体积, 0.02mL;

V2---反应体系总体积,  $2 \times 10^{-4} \text{ L}$ ;

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。