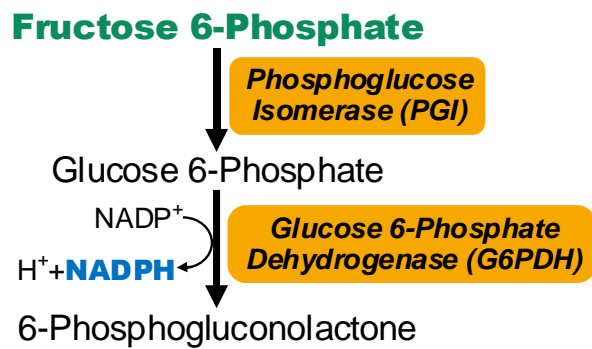




磷酸葡萄糖异构酶 (PGI) 活性检测试剂盒  
Phosphoglucose Isomerase (PGI) Activity Assay Kit



北京盒子生工科技有限公司  
Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.



## 磷酸葡萄糖异构酶 (PGI) 活性检测试剂盒

### Phosphoglucose Isomerase (PGI) Activity Assay Kit

#### 一、产品描述

磷酸葡萄糖异构酶又称葡萄糖-6-磷酸异构酶，可催化葡萄糖-6-磷酸与果糖-6-磷酸之间的异构化反应，在糖酵解途径中将葡萄糖-6-磷酸转化为果糖-6-磷酸，进一步参与糖酵解产生能量，在糖异生途径中将果糖-6-磷酸转化为葡萄糖-6-磷酸，供给细胞合成蔗糖、淀粉和其他糖类化合物所需的底物。

磷酸葡萄糖异构酶可催化果糖-6-磷酸转化为葡萄糖-6-磷酸，进一步在葡萄糖-6-磷酸脱氢酶催化作用下生成 6-磷酸葡糖酸内酯，同时使 NADP 转化为 NADPH，NADPH 在 340 nm 处具有特征吸收峰，通过吸光值变化速率即可表征磷酸葡萄糖异构酶的活性。

#### 二、产品内容

名称		试剂规格	储存条件	使用说明及注意事项
提取液		液体 60 mL×1 瓶	4°C 保存	-
试剂一		粉剂×1 支	-20°C 避光保存	使用前加入 1 mL 蒸馏水充分溶解 (分装后-20°C 可保存一个月，避免反复冻融)
试剂二	组分 A	液体 60 mL×1 瓶	4°C 保存	使用前将组分 A 加入组分 B 中充分溶解 (分装后-20°C 可保存一个月，避免反复冻融)
	组分 B	粉剂×1 瓶	-20°C 避光保存	

#### 三、产品使用说明

**测定过程中所需要的仪器和试剂：**紫外分光光度计、1 mL 石英比色皿（光径 10 mm）、研钵/匀浆器、可调式移液器、台式离心机、恒温水浴/培养箱和蒸馏水。

##### 1. 粗酶液的制备（可根据预实验结果适当调整样本量及比例）

①组织：按照组织质量 (g)：提取液体积 (mL) 为 1: (5-10) 的比例（建议称取 0.1 g 组织，加入 1 mL 提取液）处理样品，冰浴匀浆，4°C 8000 g 离心 10 min，取上清置于冰上待测。

②细菌或细胞：离心收集细菌或细胞至离心管内，按照细菌或细胞数量( $10^4$  个)：提取液体积(mL) 为 (500-1000)：1 的比例（建议 500 万个细菌或细胞加入 1 mL 提取液）处理样品，冰浴超声破碎（功率 20% 或 200 W，超声 3 s，间隔 10 s，重复 30 次），4°C 8000 g 离心 10 min，取上清置于冰上待测。

③血清（浆）、培养液等液体样本：直接检测或适当稀释后再进行检测。

## 2.测定步骤

- ①紫外分光光度计预热 30 min 以上，调节波长至 340 nm，蒸馏水调零。
- ②检测工作液的制备（现用现配）：根据使用量按试剂一：蒸馏水=1:99 体积比配制并充分混匀。
- ③在 1 mL 石英比色皿中依次加入下列试剂：

试剂	测定组 ( $\mu\text{L}$ )	空白组 ( $\mu\text{L}$ )
粗酶液	50	-
蒸馏水	-	50
检测工作液	50	50
试剂二	900	900

**吸光值测定：**①充分混匀并立即开始计时，测定 10 s（总时间）时 340 nm 处吸光值，记为 A1 测定和 A1 空白；②准确反应 60 s，测定 70 s（总时间）时 340 nm 处吸光值，记为 A2 测定和 A2 空白；③计算  $\Delta A_{\text{测定}} = A2_{\text{测定}} - A1_{\text{测定}}$ ， $\Delta A_{\text{空白}} = A2_{\text{空白}} - A1_{\text{空白}}$ ， $\Delta A = \Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}$ 。注：空白组只需测定 1-2 次。

## 3.磷酸葡萄糖异构酶（PGI）活性计算

- ①按组织蛋白浓度计算

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

$$\text{PGI (U/mg prot)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times 10^9}{\epsilon \times d \times V_{\text{样}} \times \text{Cpr} \times T} = \frac{3215.43 \times \Delta A}{\text{Cpr}}$$

- ②按组织样本质量计算

单位定义：每 g 组织样本每分钟生成 1 nmol NADPH 定义为一个酶活力单位。

$$\text{PGI (U/g)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{样总}} \times 10^9}{\epsilon \times d \times V_{\text{样}} \times W \times T} = \frac{3215.43 \times \Delta A}{W}$$

- ③按细菌或细胞数量计算

单位定义：每  $10^4$  个细菌或细胞每分钟生成 1 nmol NADPH 定义为一个酶活力单位。

$$\text{PGI (U/10}^4 \text{ cell)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{样总}} \times 10^9}{\epsilon \times d \times V_{\text{样}} \times \text{细菌或细胞数量} \times T} = \frac{3215.43 \times \Delta A}{\text{细菌或细胞数量}}$$

- ④按液体样本体积计算

单位定义：每 mL 液体样本每分钟生成 1 nmol NADPH 定义为一个酶活力单位。

$$\text{PGI (U/mL)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times 10^9}{\epsilon \times d \times V_{\text{样}} \times T} = 3215.43 \times \Delta A$$

**注释:** V 样: 反应体系中加入粗酶液的体积, 0.05 mL; V 样总: 粗酶液总体积, 1 mL; V 反总: 反应体系总体积,  $1 \times 10^{-3}$  L;  $\epsilon$ : NADPH 摩尔消光系数,  $6.22 \times 10^3$  L/mol/cm; d: 1 mL 石英比色皿光径, 1.0 cm; T: 反应时间, 60 s=1 min; Cpr: 样本蛋白浓度, mg/mL; W: 样本质量, g; 细菌或细胞数量: 以万计,  $10^9$ : 单位换算系数, 1 mol/L= $10^9$  nmol/L。

#### 四、注意事项

- ①准确在相应时间点完成吸光值测定, 以确保实验结果的准确性和重复性;
- ②若 A2 测定大于 1.0 或  $\Delta A$  大于 0.5, 建议将粗酶液适当稀释后再进行测定; 若  $\Delta A$  小于 0.02, 建议适当增加样本量或延长反应时间后再进行测定, 计算时相应修改;
- ③为保证结果准确且避免试剂损失, 测定前请仔细阅读说明书 (以实际收到说明书内容为准), 确认试剂储存和准备是否充分, 操作步骤是否清楚, 且务必取 2-3 个预期差异较大的样本进行预测定, 过程中问题请您及时与工作人员联系。

**For Research Use Only. Not for Use in Diagnostic Procedures.**

**boxbio**

Manufactured and Distributed by

Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.  
Liandong U Valley, Tongzhou District, Beijing, China  
TEL: 400-805-8228

E-MAIL: techsupport@boxbio.cn

Copyright © 2020 Boxbio, All Rights Reserved.

