

(本试剂盒仅供体外研究使用，不用于临床诊断!)

产品货号：E-BC-K770-M

产品规格：48T(32 samples)/96T(80 samples)

检测仪器：酶标仪(445-460 nm)

Elabscience®磷酸葡萄糖异构酶 (PGI)

比色法测试盒

Phosphoglucose Isomerase (PGI) Activity

Colorimetric Assay Kit

使用前请仔细阅读说明书。如果有任何问题，请通过以下方式联系我们：

电话：400-999-2100

邮箱：biochemical@elabscience.cn

网址：www.elabscience.cn

具体保质期请见试剂盒外包装标签。请在保质期内使用试剂盒。

联系时请提供产品批号(见试剂盒标签)，以便我们更高效地为您服务。

用途

本试剂盒适用于检测血清(浆)、动物组织及细胞样本中的磷酸葡萄糖异构酶(PGI)的活力。

检测原理

磷酸葡萄糖异构酶(Phosphoglucose Isomerase, PGI)是一种重要的酶,能够催化葡萄糖-6-磷酸(G6P)与果糖-6-磷酸(F6P)之间的相互转化,参与糖酵解和磷酸戊糖途径。这些过程帮助细胞分解葡萄糖以获得能量,并生成其他代谢途径中的关键物质。

本试剂盒的检测原理为: PGI 催化底物生成的产物与显色剂反应生成的显色物质在波长 450 nm 处有最大吸收, 通过测定 450 nm 处的 OD 值大小计算 PGI 酶活。

本试剂盒检测组织和细胞样本时, 需测定总蛋白浓度, 推荐使用 BCA 法。(货号: E-BC-K318-M)。

提供试剂和物品

编号	名称	规格 1 (Size 1) (48 T)	规格 2 (Size 2) (96 T)	保存方式 (Storage)
试剂一 (Reagent 1)	提取液 (Extraction Solution)	55 mL×1 瓶	55 mL×2 瓶	-20°C 避光 保存 6 个月
试剂二 (Reagent 2)	缓冲液 (Buffer Solution)	55 mL×1 瓶	55 mL×2 瓶	-20°C 避光 保存 6 个月
试剂三 (Reagent 3)	底物 (Substrate)	0.5 mL×1 支	1 mL×1 支	-20°C 避光 保存 6 个月
试剂四 (Reagent 4)	氧化剂 (Oxidant Reagent)	0.5 mL×1 支	1 mL×1 支	-20°C 避光 保存 6 个月
试剂五 (Reagent 5)	酶试剂 (Enzyme Reagent)	0.3 mL×1 支	0.6 mL×1 支	-20°C 避光 保存 6 个月
试剂六 (Reagent 6)	显色剂 (Chromogenic Agent)	1.5 mL×1 支	1.5 mL×2 支	-20°C 避光 保存 6 个月
试剂七 (Reagent 7)	5 mmol/L 标准品溶液 (5 mmol/L Standard Solution)	0.5 mL×1 支	1 mL×1 支	-20°C 避光 保存 6 个月

	酶标板	48 孔×1 块	96 孔×1 块	无要求
	96 孔覆膜	2 张		
	样本位置标记表	1 张		

说明：试剂严格按上表中的保存条件保存，不同测试盒中的试剂不能混用。
对于体积较少的试剂，使用前请先离心，以免量取不到足够量的试剂。

所需自备物品

仪器：酶标仪(445-460 nm，最佳检测波长 450 nm)、恒温箱

试剂准备

① 检测前，试剂盒中的试剂平衡至室温(25℃)。

② 测定工作液的配制：

将试剂二：试剂三：试剂四：试剂五按体积比= 94：3：3：2配制，避光待用，现配现用，当天使用有效。

③ 0.5 mmol/L标准品配制：

将双蒸水：试剂七按体积比=9：1配制，避光待用，现配现用，当天使用有效。

④ 不同浓度标准品的稀释：

编号	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧
标准品浓度(mmol/L)	0	0.10	0.15	0.20	0.30	0.35	0.40	0.50
0.5 mmol/L 标准品(μL)	0	40	60	80	120	140	160	200
双蒸水(μL)	200	160	140	120	80	60	40	0

样本准备

① 样本处理

血清(浆)样本：直接测定。

组织样本：按照组织样本质量(g)：试剂一体积(mL)=1:9 的比例匀浆(如 0.05 g 组织样本，加入 0.45 mL 试剂一)。4°C，10000 × g 离心 10 min，取上清待测，留取部分上清进行蛋白浓度测定。

细胞样本：按照每 1×10^6 个细胞，加入 200 μ L 试剂一进行匀浆。4°C，10000 × g 离心 10 min，取上清待测，留取部分上清进行蛋白浓度测定。

② 样本的稀释

在正式检测前，需选择2-3个预期差异大的样本稀释成不同浓度进行预实验，根据预实验的结果，结合本试剂盒的线性范围：0.78-50.09 U/L，请参考下表稀释(仅供参考)：

样本	稀释倍数	样本	稀释倍数
10%小鼠肝组织	100-200	大鼠血清	10-40
10%小鼠肾组织	100-200	小鼠血清	10-40
10%小鼠肌肉组织	100-200	人血清	10-40
1×10^6 个 HL-60 细胞	10-20	1×10^6 个 Jurkat 细胞	10-20
1×10^6 个 293T 细胞	10-20		

注：稀释液为试剂一。

操作步骤

- ① 标准孔:取 20 μL 不同浓度的标准品溶液, 分别加入相应的酶标孔中。
测定孔: 取 20 μL 待测样本加入相应的酶标孔中。
- ② 向步骤①中的标准孔和测定孔加入 100 μL 测定工作液。
- ③ 向步骤②中各孔加入 20 μL 试剂六。
- ④ 振板 5 s, 酶标仪 450 nm 波长下检测测定孔的 OD 值 A_1 , 37°C 孵育 10 min 后, 酶标仪 450 nm 波长下检测各孔的 OD 值 A_2 , 标准曲线以标准孔 A_2 值进行拟合。

操作表

	标准孔	测定孔
不同浓度的标准品溶液(μL)	20	--
待测样本(μL)	--	20
测定工作液(μL)	100	100
试剂六(μL)	20	20
振板 5 s, 酶标仪 450 nm 波长下检测测定孔的 OD 值 A_1 , 37°C 孵育 10 min 后, 酶标仪 450 nm 波长下检测各孔的 OD 值 A_2 , 标准曲线以标准孔 A_2 值进行拟合。		

本试剂盒检测组织和细胞样本时,需测定总蛋白浓度,推荐使用 BCA 法。
(货号: E-BC-K318-M)。

结果计算

标准品拟合曲线： $y = ax + b$

① 血浆(清)样本中磷酸葡萄糖异构酶(PGI)活力计算公式：

定义：37°C 条件下，每升血浆(清)每分钟催化底物产生 1 μmol 的产物所需要的酶活为一个活力单位。

$$\text{PGI 活力 (U/L)} = (\Delta A_{450} - b) \div a \div T \times f \times 1000$$

② 组织或细胞样本中磷酸葡萄糖异构酶(PGI)活力计算公式：

定义：37°C 条件下，每克组织或细胞蛋白每分钟催化底物产生 1 μmol 的产物所需要的酶活为一个活力单位。

$$\text{PGI 活力 (U/gprot)} = (\Delta A_{450} - b) \div a \div T \times f \div C_{pr} \times 1000$$

注解：

y: 标准品 OD 值-空白 OD 值(标准品浓度为 0 时的 OD 值，标准曲线以标准孔 A_2 值进行拟合)

x: 标准品的浓度

a: 标曲的斜率

b: 标曲的截距

ΔA_{450} : 测定孔绝对 OD 值, $A_2 - A_1$

T: 反应时间, 10 min

f: 样本加入检测体系前的稀释倍数

C_{pr} : 待测样本的蛋白浓度, gprot/L

1000: 单位换算, 1 mmol/L=1000 $\mu\text{mol/L}$

附录1 关键数据

1. 技术参数

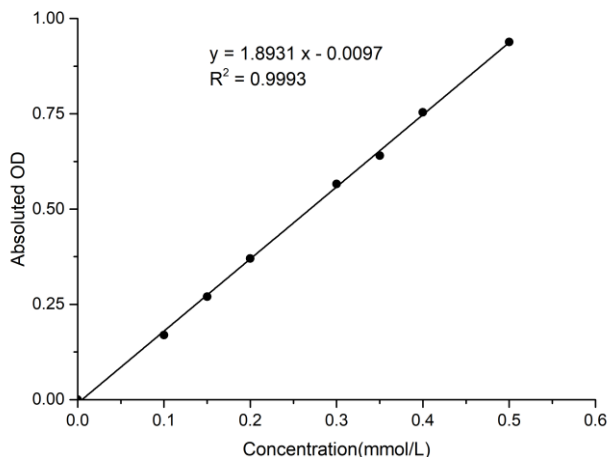
检测范围	0.78-50.09 U/L	批间差	6.5-9.9%
灵敏度	0.78 U/L	批内差	2.0-2.7%
稀释回收率	102-111%		

2. 标准曲线(数据仅供参考)

① 不同浓度标准品加样量20 μ L, 按照操作步骤进行实验, OD值如下表所示:

标准品浓度 (mmol/L)	0	0.10	0.15	0.20	0.30	0.35	0.40	0.50
A ₂ 值	0.078	0.244	0.346	0.444	0.644	0.713	0.838	1.013
	0.078	0.251	0.350	0.452	0.644	0.724	0.826	1.020
平均 A ₂ 值	0.078	0.248	0.348	0.448	0.644	0.719	0.832	1.017
绝对 A ₂ 值	0	0.170	0.270	0.370	0.566	0.641	0.754	0.939

② 绘制标曲(如下图):



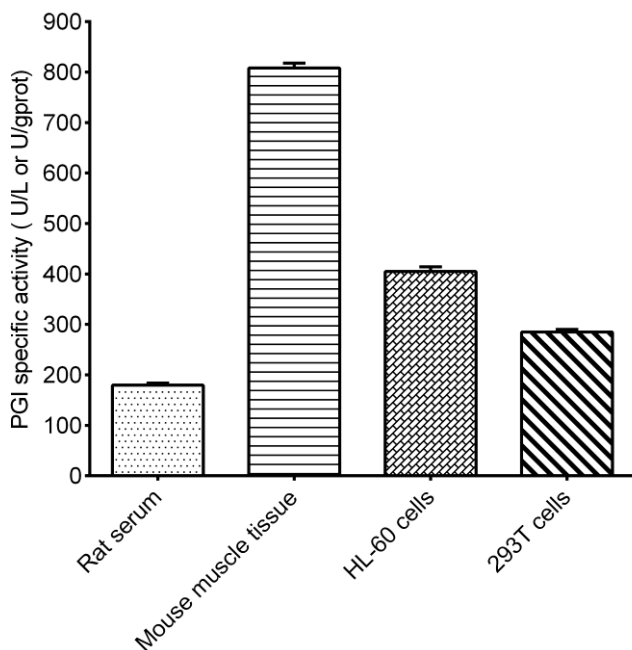
附录2 实例分析

例如小鼠肌肉组织(数据仅供参考):

取20 μL 稀释200倍的10%小鼠肌肉组织加入到酶标板孔中, 按操作表操作, 结果如下: 标准曲线: $y = 1.8931x - 0.0097$, 测定孔 A_1 值为0.417, 测定孔 A_2 值为0.962, $\Delta A_{450} = A_2 - A_1 = 0.962 - 0.417 = 0.545$, 测定出10%小鼠肌肉组织匀浆的蛋白浓度为7.33 gprot/L, 计算结果为:

$\text{PGI活力}(\text{U/gprot}) = (0.545 + 0.0097) \div 1.8931 \div 10 \times 200 \div 7.33 \times 1000 = 799.5 \text{ U/gprot}$

按说明书操作, 测定大鼠血清(稀释倍数为20, 加样量20 μL)、小鼠肌肉组织(10%组织匀浆蛋白浓度为7.33 gprot/L, 稀释倍数为200, 加样量20 μL)、HL-60细胞(1.26×10^6 个, 稀释倍数为10, 蛋白浓度为0.76 gprot/L, 加样量20 μL)、293T细胞(1.39×10^6 个, 稀释倍数为10, 蛋白浓度为1.04 gprot/L, 加样量20 μL)中的PGI活力(如下图):



声明

1. 试剂盒仅供研究使用，如将其用于临床诊断或任何其他用途，我公司将不对因此产生的问题负责，亦不承担任何法律责任。
2. 实验前请仔细阅读说明书并调整好仪器，严格按照说明书进行实验。
3. 实验中请穿着实验服并戴乳胶手套做好防护工作。
4. 试剂盒检测范围不等于样本中待测物的浓度范围。如果样品中待测物浓度过高或过低，请对样本做适当的稀释或浓缩。
5. 若所检样本不在说明书所列样本类型之中，建议先做预实验验证其检测有效性。
6. 最终的实验结果与试剂的有效性、实验者的相关操作以及实验环境等因素密切相关。本公司只对试剂盒本身负责，不对因使用试剂盒所造成的样本消耗负责，使用前请充分考虑样本可能的使用量，预留充足的样本。

