上海源叶生物科技有限公司
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd
电话：021-61312973　传真：021-55068248
网址：www.shyuanye.com
邮箱：shyysw@sina.com

3-磷酸甘油酸激酶活性检测试剂盒(紫外分光光度法)

货号： R42134

规格： 50T/48S

保质期：6个月

产品组成及保存条件：

编号	规格	储存条件
ES509	50mL×1瓶	4℃保存；
试剂-A	25mL×1瓶	4℃避光保存；
试剂-B	粉剂×1瓶	-20℃避光保存。临用前加5mL蒸馏水充分溶解；用不完的试剂分装后-20℃保存，禁止反复冻融。
试剂-C	粉剂×1瓶	-20℃避光保存。临用前加2.5mL蒸馏水充分溶解；用不完的试剂分装后-20℃保存，禁止反复冻融。
试剂-D	粉剂×1瓶	-20℃避光保存。临用前加2.5mL蒸馏水充分溶解；用不完的试剂分装后-20℃保存，禁止反复冻融。
试剂-E	粉剂×1瓶	-20℃避光保存；临用前加10 mL蒸馏水充分溶解；用不完的试剂分装后-20℃保存，禁止反复冻融。

※ 正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定

简介

意义：3-磷酸甘油酸激酶（3-Phosphoglycerate kinase，PGK）是糖酵解的关键酶，广泛存在于动植物和微生物体内，催化 1，3-二磷酸甘油酸转变为 3-磷酸甘油酸，产生 1 分子 ATP，具有影响 DNA 复制和修补及刺激病毒 RNA 合成等生物学功能，广泛应用于药物靶标设计。

原理：3-磷酸甘油酸激酶催化 3-磷酸甘油酸和 ATP 产生 1,3-二磷酸甘油酸和 ADP，1,3-二磷酸甘油酸在 3-磷酸甘油醛脱氢酶和 NADH 作用下产生 3-磷酸甘油醛、NAD 和磷酸，340nm 处的吸光度变化反映了 3-磷酸甘油酸激酶的活性的高低。

自备用品：

紫外分光光度计、低温台式离心机、水浴锅、1 mL 石英比色皿、天平、研钵、冰和蒸馏水。

酶液提取：

1. 组织：按照组织质量（g）：提取液体积(mL)为 1：5~10 的比例（建议称取约 0.1g 组织，加入 1mL ES509）进行冰浴匀浆，然后 10000g，4℃，离心 10min，取上清置于冰上待测。

2. 细胞：按照细胞数量（10^4 个）：提取液体积（mL）为 500~1000：1 的比例（建议 500 万细胞加入 1mL ES509），冰浴超声波破碎细胞（功率 300w，超声 3 秒，间隔 7 秒，总时间 3min）；然后 10000g，4℃，离心 10min，取上清置于冰上待测。

3. 血清（浆）等液体：直接检测。若有浑浊则离心后取上清测定。

测定步骤：

1. 紫外分光光度计预热 30min，调节波长至 340nm，蒸馏水调零。

2. 取 1ml 石英比色皿依次加入

试剂名称	测定管(ul)
试剂-A	500
试剂-B	100
试剂-C	50
试剂-D	50
试剂-E	200
粗酶液	100
充分混匀，记录 340nm 处 10s 的吸光值 A1，然后迅速置于 37℃水浴或培养箱 5min，拿出迅速擦干测定 310s 时的吸光值 A2，计算△A=A1-A2.	

计算公式：

1. 按照样本蛋白浓度计算

酶活单位定义：每毫克组织蛋白每分钟消耗 1nmol 的 NADH 定义为一个酶活力单位。

PGK (U/mg prot) = ΔA÷(ε×d)×V 反总×10^9÷(V 样×Cpr)÷T = 321.54×ΔA÷Cpr

2. 按照样本质量计算

酶活单位定义：每克组织每分钟消耗 1nmol 的 NADH 定义为一个酶活力单位。

PGK (U/g 鲜重) = ΔA÷(ε×d)×V 反总×10^9÷(W ×V 样÷V 样总)÷T =321.54×ΔA÷W

3. 按照液体体积计算

酶活单位定义：每 mL 血清（浆）每分钟消耗 1nmol 的 NADH 定义为一个酶活力单位。

PGK（U/mL）=ΔA÷(ε×d)×V 反总×10^9÷V 样÷T=321.54×ΔA

4. 按照细胞数量计算

酶活单位定义：每 10^4 个细胞每分钟消耗 1nmol 的 NADH 定义为一个酶活力单位。

PGK（U/10^4 cell）=ΔA÷(ε×d)×V 反总×10^9÷(N×V 样÷V 样总)÷T=321.54×ΔA÷N

注：V 反总：反应体系总体积，1×10^{-3}L；ε：NADH 摩尔消光系数，6.22×10^3 L / mol /cm；d：比色皿光径，1cm；V 样：加入样本体积，0.1mL；V 样总：加入提取液体积，1mL；T：反应时间，5 min；Cpr：样本蛋白质浓度，mg/mL；W：样本质量，g；N：细胞数量，以万计；10^9：单位换算系数，1mol=10^9nmol。