



3-磷酸甘油酸激酶活性检测试剂盒

PGK Assay Kit

微量法

产品编号: AK509M

产品规格: 100T/96S

产品组成及保存条件:

编号	规格	储存条件
ES509	100mL×2 瓶	4℃保存;
AK509-A	10mL×1 瓶	4℃避光保存;
AK509-B	粉剂×1 瓶	-20℃避光保存。临用前加 2mL 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。
AK509-C	粉剂×1 支	-20℃避光保存。临用前加 1mL 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。
AK509-D	粉剂×1 支	-20℃避光保存。临用前加 1mL 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。
AK509-E	粉剂×1 瓶	-20℃避光保存; 临用前加 4 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/酶标仪、微量石英比色皿/96 孔板、天平、低温离心机、研钵。

酶液提取

- 总 PGK 酶提取:** 建议称取约 0.1g 样本, 加入 1mL ES509, 冰浴匀浆后超声破碎 (冰浴, 200W, 破碎 3s, 间歇 7s, 总时间 1min), 然后 4℃, 8000g 离心 10min, 取上清测定。
- 胞浆和叶绿体 PGK 酶的分离:** 按照植物组织质量 (g): 提取液体积 (mL) 为 1: 5~10 的比例 (建议称取约 0.1g 样本, 加入 1mL ES509), 冰浴匀浆后于 4℃, 200g 离心 5min, 弃沉淀, 取上清在 4℃, 8000g 离心 10min, 取上清用于测定胞浆 PGK 酶活性, 取沉淀加 1mL ES509, 震荡溶解后超声破碎 (冰浴, 200W, 破碎 3s, 间歇 7s, 总时间 1min), 然后 4℃, 8000g 离心 10min, 取上清测定叶绿体中 PGK 酶活性。
- 建议测定总 PGK 酶活性, 按照步骤 1 提取粗酶液, 若需要分别测定胞浆和叶绿体中的 PGK, 则按照步骤 2 提取粗酶液。**

测定步骤:

- 紫外分光光度计/酶标仪预热 30min, 调节波长至 340nm, 蒸馏水调零。
- 取微量石英比色皿/96 孔板, 依次加入:

试剂名称	测定管 (ul)
AK509-A	100
AK509-B	20

AK509-C	10
AK509-D	10
AK509-E	40
粗酶液	20
充分混匀，记录 340nm 处 10s 的吸光值 A1 和 310s 的吸光值 A2， $\Delta A=A1-A2$	

计算公式：

a. 用微量石英比色皿测定的计算公式如下

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 1 nmol 的 NADH 定义为一个酶活力单位。

$$PGK (\text{nmol/min /mg prot}) = \Delta A \div (\epsilon \times d) \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \times C_{\text{pr}}) \div T = 321.54 \times \Delta A \div C_{\text{pr}}$$

2. 按照样本质量计算

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

$$PGK (\text{nmol/min /g 鲜重}) = \Delta A \div (\epsilon \times d) \times V_{\text{反总}} \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 321.54 \times \Delta A \div W$$

注： V 反总：反应体系总体积，0.2mL； ϵ ：NADH 摩尔消光系数， $6.22 \times 10^3 \text{ L / mol /cm}$ ；d：比色皿光径，1cm；V 样：加入样本体积，0.02mL；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。

b. 用 96 孔板测定的计算公式如下

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 1 nmol 的 NADH 定义为一个酶活力单位。

$$PGK (\text{nmol/min /mg prot}) = \Delta A \div (\epsilon \times d) \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \times C_{\text{pr}}) \div T = 643.08 \times \Delta A \div C_{\text{pr}}$$

2. 按照样本质量计算

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

$$PGK (\text{nmol/min /g 鲜重}) = \Delta A \div (\epsilon \times d) \times V_{\text{反总}} \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 643.08 \times \Delta A \div W$$

注： V 反总：反应体系总体积，0.2mL； ϵ ：NADH 摩尔消光系数， $6.22 \times 10^3 \text{ L / mol /cm}$ ；d：比色皿光径，0.5cm；V 样：加入样本体积，0.02mL；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。