

线粒体-3-磷酸甘油脱氢酶 (mt-GPD) 活性试剂盒 (可见分光光度法)

产品货号: BA2828

产品规格: 48样

产品简介:

线粒体-3-磷酸甘油脱氢酶(mt-GPD)存在于线粒体中,在3-磷酸甘油途径中起重要作用,催化底物3-磷酸甘油生成磷酸二羟丙酮,同时生成的电子和氢进入呼吸链参与氧化磷酸化;在电子传递体(PMS)存在下,使噻唑蓝(MTT)还原生成蓝色产物,通过检测该蓝色产物在550nm处的增加速率,即可得出mt-GPD活性大小。

产品内容:

产品名称	规格	保存条件	备注
试剂一	液体60mL×1瓶	2-8℃	
试剂二	液体15mL×1瓶	2-8℃	
试剂三	液体0.5mL×1支	2-8℃	
试剂四	粉剂mg×2支	2-8℃	用前甩几下使粉剂落入底部,再支加1.2mL蒸馏水溶解。一周内用完。
试剂五	粉剂mg×4支	-20℃	用前甩几下使粉剂落入底部,再支加0.6mL蒸馏水溶解。一天内用完。
试剂六	液体35mL×1瓶	2-8℃	
试剂七	粉剂mg×1支	2-8℃	用前甩几下使粉剂落入底部,加4.4mL蒸馏水溶解。

所需的仪器和用品:

可见分光光度计、石英比色皿(光径1cm)、可调式移液器、台式离心机、水浴锅、研钵、冰和蒸馏水。

线粒体-3-磷酸甘油脱氢酶 (mt-GPD) 活性检测:

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!

- 线粒体制备(提示:整个线粒体的提取过程须保持4℃低温环境):
 - 称取约0.1g组织或收集500万细菌/细胞,加入1mL试剂一,用冰浴匀浆器或研钵匀浆,转移至离心管后于4℃×700g离心10min。
 - 弃沉淀,上清液移至另一离心管中,4℃×12000g离心10min。用移液器移除上清液(上清液即为胞浆提取物,可用于测定从线粒体泄漏的酶活性(此步可选做),留下沉淀(沉淀即线粒体))。
 - 在沉淀(线粒体)中加入200μL试剂二和2μL试剂三,超声波破碎(冰浴,功率20%或200W,超声3s,间隔10秒,重复30次),液体置于冰上用于线粒体-3-磷酸甘油脱氢酶(mt-GPD)活性测定。

【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的比例进行提取,或按照细菌/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:

- 可见分光光度计预热30min以上,调节波长至550nm,蒸馏水调零。
- 在EP管中依次加入下列试剂:



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址:郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话: 400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱: zzlybio@126.com

试剂名称(μL)	测定管
样本	80
试剂一	40
试剂二	40
试剂三	600
试剂四	40
混匀，立即于550nm处读取A1，5min后读取A2， $\Delta A = A2 - A1$ 。	

【注】 加完试剂四即启动反应，所以试剂四加完需立即检测，若 ΔA 小于0.01，则增加样本上样量V1，试剂六相应减少保持原体系不变(如样本上样量为160μL时，试剂六为520μL)。则改变后的V1需带入计算公式重新计算。

结果计算：

1. 按样本蛋白浓度计算：

酶活定义：每毫克组织蛋白每分钟还原1nmol噻唑蓝（MTT）定义为一个酶活力单位。

$$\text{mtGPD活力}(\text{nmol/min/mg prot}) = [\Delta A \times V2 \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (V1 \times \text{Cpr}) \div T = 247 \times \Delta A \div \text{Cpr}$$

2. 按样本鲜重计算：

酶活定义：每克组织每分钟还原1nmol噻唑蓝（MTT）定义为一个酶活为单位。

$$\text{mtGPD活力}(\text{nmol/min/g 鲜重}) = [\Delta A \times V2 \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (W \times V1 \div V) \div T = 49.9 \times \Delta A \div W$$

3. 按细菌/细胞密度计算：

酶活定义：每1万个细菌/细胞每分钟还原1nmol噻唑蓝（MTT）定义为一个酶活单位。

$$\text{mtGPD活力}(\text{nmol/min}/10^4 \text{ cell}) = [\Delta A \times V2 \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (500 \times V1 \div V) \div T = 0.1 \times \Delta A$$

ϵ ---还原型 MTT 的摩尔消光系数， $8.1 \times 10^3 \text{ L/mol/cm}$ ； d ---96 孔板光径，1cm； V ---加入提取液体积，0.202mL； $V1$ ---加入样本体积，0.08mL； $V2$ ---反应体系总体积， $8 \times 10^{-4} \text{ L}$ ； T ---反应时间，5min； W ---样本质量，g；500---细胞或细菌总数，500 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。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q：807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com