

3-磷酸甘油酯酶（GPP）活性检测试剂盒说明书

产品货号	产品名称	包装规格	测定方法
AMHB4-C24	3-磷酸甘油酯酶（GPP） 活性检测试剂盒	24T	常量法
AMHB4-C48		48T	

一、测定意义：

3-磷酸甘油酯酶是糖酵解、甘油代谢及磷脂合成等关键代谢途径的核心酶，其活性变化与能量代谢调控、脂质稳态及疾病发生（如糖尿病、肥胖症）密切相关。测定其活性可为生理病理机制研究、药物靶点筛选及临床诊断提供重要依据。

二、测定原理：

3-磷酸甘油酯酶的钼蓝比色法基于酶催化底物水解生成无机磷酸盐（Pi）的特性。在酸性条件下，游离的磷酸根离子与钼酸铵反应生成磷钼酸复合物，随后在抗坏血酸等还原剂作用下被还原为蓝色的钼蓝络合物。其吸光度值与 Pi 浓度成正比（检测波长 660 nm），通过测定反应体系中蓝色产物的生成量，可间接反映 3-磷酸甘油酯酶的活性。

三、试剂组成：

试剂名称	试剂装量(24T)	试剂装量(48T)	保存条件
提取液	液体 30mL×1 瓶	液体 60mL×1 瓶	2~8℃保存
试剂一	液体 10mL×1 瓶	液体 20mL×1 瓶	2~8℃保存
试剂二	液体 1.5mL×1 支	液体 1.5mL×2 支	-20℃保存
试剂三	液体 1mL×1 支	液体 1mL×2 支	2~8℃保存
试剂四	液体 6mL×1 瓶	液体 12mL×1 瓶	2~8℃保存
试剂五	粉剂 ×1 瓶	粉体 ×2 瓶	2~8℃保存
试剂五的配制： 用时每瓶粉剂加入蒸馏水 15mL，混匀充分溶解，现用现配。			
试剂六	粉剂 ×1 瓶	粉体 ×2 瓶	2~8℃保存
试剂六的配制： 用时每瓶粉剂加入蒸馏水 15mL，混匀充分溶解，现用现配。			
试剂七	液体 15mL×1 瓶	液体 30mL×1 瓶	室温保存
定磷剂的配制： 现用现配，按双蒸水:试剂五:试剂六:试剂七=2:1:1:1 的比例配制，配好的定磷剂应为浅黄色，若无色则试剂失效，若是			

蓝色则为磷污染。

标准品 (10μmol/mL)	液体 1mL×1 支	液体 1mL×2 支	2~8℃保存
--------------------	------------	------------	--------

四、操作步骤：

样本前处理

- 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）进行冰浴匀浆。5000 rpm，4℃离心 10 min，取上清置冰上待测。
- 2、细菌、细胞：按照细胞数量 10⁴ 个:提取液体积（mL）500~1000:1 的比例（建议 500 万细胞加入 1 mL 提取液），冰浴超声波破碎细胞（功率 300w，超声 3s，间隔 7s，总时间 3 min），5000 rpm，4℃离心 10min，取上清置冰上待测。

测定步骤

- 1、分光光度计预热 30min 以上，调节波长至 660nm，蒸馏水调零；
- 2、测定前将试剂恢复至常温；
- 3、将 10μmol/mL 标准品用蒸馏水依次稀释至 0、0.5、1、1.5、2、2.5μmol/mL，备用；
- 4、操作表（在离心管中加入以下试剂）：

试剂名称	测定管	空白管
样品（μL）	20	-
试剂一（μL）	320	320
试剂二（μL）	40	40
试剂三（μL）	20	20
37℃孵育 30min		
试剂四（μL）	200	200
样品（μL）	-	20
离心 10min，取上清		

- 5、显色反应（在石英比色皿中加入以下试剂）：

试剂名称	测定管	对照管	空白管	标准管
------	-----	-----	-----	-----

标准品 (μL)	-	-	-	100
上清液 (μL)	100	100	-	-
蒸馏水 (μL)	-	-	100	-
定磷剂 (μL)	1000	1000	1000	1000

混匀, 45℃孵育 20min, 冷却至室温后, 蒸馏水调零, 于波长 660nm 测定各管吸光度。分别记为 $A_{\text{空白}}$ 、 $A_{\text{标准}}$ 、 $A_{\text{对照}}$ 、 $A_{\text{测定}}$ 。 $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}$, $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ 。

注: 标准管和空白管只需做 1-2 次。

五、3-磷酸甘油酯酶 (GPP) 活性测定:

1、标准曲线绘制: 以 $\Delta A_{\text{标准}}$ 为横坐标, 标准品浓度为纵坐标, 绘制标准曲线。根据标准曲线, 将 $\Delta A_{\text{测定}}$ 带入公式计算出样本浓度 (y, μmol/mL);

2、3-磷酸甘油酯酶 (GPP) 活性计算

(1) 按样本蛋白浓度计算

单位定义: 每毫克蛋白每分钟生成 1μg 无机磷为一个酶活力单位。

计算公式: $GPP (\text{nmol/min/mg prot}) = y \times V_{\text{反应}} \div (V_{\text{样}} \times Cpr) = y \times Cpr \times 30$

(2) 按样本鲜重计算

单位定义: 每克组织每分钟生成 1μg 无机磷为一个酶活力单位。

计算公式: $GPP (\text{nmol/min/g}) = y \times V_{\text{反应}} \div (V_{\text{样}} \div W \times V_{\text{样}}) = y \times W \times 30$

(3) 按照细菌或细胞数量计算

单位定义: 每 1 万个细菌或细胞每分钟生成 1μg 无机磷为一个酶活力单位。

计算公式: $GPP (\text{nmol/min}/10^4 \text{ cell}) = y \times V_{\text{反应}} \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times 500) = y \times 0.06$

$V_{\text{样总}}$: 加入提取液体积, 1 mL; $V_{\text{反应}}$: 反应体系总体积, 0.6mL;

$V_{\text{样}}$: 加入样本体积, 0.02mL; Cpr : 样本蛋白质浓度, mg/mL; W :

样本质量, g; 500: 细菌或细胞总数, 500 万。

六、 注意事项:

1、注意磷污染;

2、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。

【厂家信息】

生产企业: 南京陌凡生物科技有限公司

地址: 南京市栖霞区红枫科技园 A6 栋 2 层

【售后微信】



【说明书核准及修改日期】

核准日期: 2025 年 4 月 7 日

修改日期: 2025 年 4 月 7 日