

6-磷酸葡萄糖脱氢酶 (G6PDH) / 葡萄糖-6-磷酸脱氢酶检测试剂盒 (微量法)

货号：PMK1013

保存：-20℃避光保存 12 个月

规格：48T/96T

适用样本：血清（浆）、组织、细胞、细菌

产品简介

G6PDH (EC 1.1.1.49) 广泛存在于动物、植物、微生物和培养细胞中，是磷酸戊糖途径的关键酶，催化 6-磷酸葡萄糖氧化为 6-磷酸葡萄糖酸内酯，同时将 NADP⁺还原为 NADPH，供生物合成及维持细胞内的还原状态用。因此 6-磷酸葡萄糖脱氢酶活性的高低可以从一定程度上反映出生物体的生物合成和抗氧化能力。本试剂盒提供了一种简单的检测方法，用于检测生物样本中 G6PDH 活性，其原理是 G6PDH 催化 NADP⁺还原生成 NADPH，在 340nm 下测定 NADPH 增加速率来计算 G6PDH 活性。

产品内容

试剂盒组分	规格		储存条件
	48T	96T	
提取液	50mL	100mL	4℃保存
试剂一	9.5mL	19mL	4℃保存
试剂二	粉剂×1 瓶	粉剂×1 瓶	-20℃保存
试剂三	粉剂×1 瓶	粉剂×1 瓶	-20℃保存

自备耗材

酶标仪或紫外分光光度计（能测 340nm 处的吸光度）
 96 孔 UV 微孔板或微量石英比色皿、可调节式移液枪及枪头
 恒温箱、制冰机、低温离心机
 去离子水
 匀浆器（如果是组织样本）

试剂准备

提取液：即用型；4℃保存。
 试剂一：即用型；使用前，平衡到室温；4℃保存。
 工作液配制：临用前，将试剂二和试剂三转移至试剂一中充分溶解；用不完的试剂分装后-20℃保存，避免反复冻融。

样本制备

组织：称取 0.1g 组织样本，加入 1mL 预冷的提取液，快速冰上匀浆。匀浆后的样本，8,000g，4℃离心 10min，取上清液，置冰上待测。
 细胞或细菌：收集 500 万细胞或细菌到离心管内，用冷 PBS 清洗细胞或细菌，离心后弃上清，加入 1mL 预冷的提取液，冰浴超声波破碎细胞或细菌 5min（功率 20%或 200W，超声 3s，间隔 7s，重复 30 次），然后 8,000g，4℃离心 10min，取上清液，置冰上待测。
 血清（浆）等液体样本：直接测定。

注意：

1. 推荐使用新鲜样本，如果不立即进行实验，样本可在-80℃保存 1 个月，样品处理等过程均需要在冰上进行，且须在当日测定酶活力，匀浆液避免反复冻融。
2. 如需测定蛋白浓度，推荐使用 BCA 法蛋白质定量试剂盒，进行样本蛋白质浓度测定。

产品说明书

实验步骤

1. 酶标仪或紫外分光光度计预热 30min 以上，调节波长到 340nm，紫外分光光度计去离子水调零。
2. 工作液置于 25℃（普通物种）或者 37℃（哺乳动物）中预热 30min。
3. 样本测定：在 96 孔 UV 板或微量石英比色皿中依次加入 10 μL 样本，190 μL 工作液，迅速混匀，于 340nm 处测定 1min，25℃（普通物种）或者 37℃（哺乳动物）孵育 5min 后再测定 6min 的吸光度，记为 A_1 和 A_2 ，计算 $\Delta A = A_2 - A_1$

注意：

1. 实验之前建议选择 2-3 个预期差异大的样本做预实验。如果 ΔA 小于 0.001 可适当加大样本量。如果 ΔA 大于 0.5，样本可用提取液进一步稀释，计算结果乘以稀释倍数，或减少提取用样本量。
2. 测定反应的温度对测定结果有影响，请控制在 25℃（一般物种）或者 37℃（哺乳动物）。
3. 因通过反应速率计算酶活，使用 96 孔 UV 板时请根据操作速度控制一次测定的样本数（通常一次测定 4-8 个样本）。

结果计算

A. 使用 96 孔 UV 微孔板测定的计算公式如下：

（1）按样本鲜重计算

活力单位定义：一定温度中，每 g 样品在反应体系中每分钟催化生成 1nmol NADPH 为 1 个酶活单位。

$$G6PDH(U/g \text{ 鲜重}) = [\Delta A \div (\epsilon \times d) \times V_{\text{反总}} \times 10^9] \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times W) \div T = 1286 \times \Delta A \div W$$

（2）按液体体积计算

活性单位定义：一定温度中，每 mL 液体样本在反应体系中每分钟催化生成 1nmol NADPH 为 1 个酶活单位。

$$G6PDH(U/mL) = [\Delta A \div (\epsilon \times d) \times V_{\text{反总}} \times 10^9] \div V_{\text{样}} \div T = 1286 \times \Delta A$$

（3）按细胞数量计算

活力单位定义：一定温度中，每 10^4 个细胞或细菌在反应体系中每分钟催化生成 1nmol NADPH 为 1 个酶活单位。

$$G6PDH(U/10^4 \text{ Cells}) = [\Delta A \div (\epsilon \times d) \times V_{\text{反总}} \times 10^9] \div (500 \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 1286 \times \Delta A \div 500 = 2.572 \times \Delta A$$

（4）按蛋白浓度计算

活力单位定义：一定温度中，每毫克蛋白在反应体系中每分钟催化生成 1nmol NADPH 为 1 个酶活单位。

$$G6PDH(U/mg \text{ prot}) = [\Delta A \div (\epsilon \times d) \times V_{\text{反总}} \times 10^9] \div (Cpr \times V_{\text{样}}) \div T = 1286 \times \Delta A \div Cpr$$

ϵ ：NADPH 摩尔消光系数， $6.22 \times 10^3 \text{ L/mol/cm}$ ； d ：96 孔板光径，0.5cm； $V_{\text{反总}}$ ：反应体系总体积， $200 \mu\text{L} = 2 \times 10^{-4} \text{ L}$ ； 10^9 ： $1 \text{ mol} = 1 \times 10^9 \text{ nmol}$ ； Cpr ：上清液蛋白浓度 mg/mL； W ：样品质量，g； $V_{\text{样}}$ ：加入反应体系中样本体积， $10 \mu\text{L} = 0.01 \text{ mL}$ ； $V_{\text{样总}}$ ：提取液体积，1mL； T ：反应时间，5min；500：细胞数量，500 万。

B. 使用微量石英比色皿进行测定的计算公式

将上述计算公式中光径 d ：0.5cm 调整为 d ：1cm 进行计算即可。

注意事项

1. 实验过程中请穿戴实验服、口罩和乳胶手套。请按照生物实验室的国家安全规定进行实验，尤其是在检测血样或其他体液时。
2. 本试剂盒仅用于实验室科学研究，如果本试剂盒用于临床诊断或任何其他用途，我们将不对任何后果负责。
3. 本试剂盒应在有效期内使用，并请严格按照说明书进行存储。
4. 不同批次号、不同厂家之间的组分不要混用；否则，可能导致结果异常。
5. 勤换吸头，避免各组分之间的交叉污染。

相关产品：

PMK1017 6-磷酸葡萄糖酸脱氢酶（6PGDH）检测试剂盒（微量法）

PMK1011 辅酶 II NADP(H) 检测试剂盒（微量法）

PMK1001 乳酸脱氢酶（LDH）检测试剂盒（微量法）

PMK1002 NAD-苹果酸脱氢酶（NAD-MDH）检测试剂盒（微量法）

PMK1003 NADP-苹果酸脱氢酶（NADP-MDH）检测试剂盒（微量法）

更多产品详情了解，请关注公众号：

