

## 6-磷酸葡萄糖酸脱氢酶（6PGDH）检测试剂盒（微量法）

货号：PMK1017

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

磷酸戊糖途径途径中 6-磷酸葡萄糖脱氢酶（6PGDH）和 6-磷酸葡萄糖酸脱氢酶（6PGDH）依次催化 NADPH 合成，与能量的平衡、生长速率和细胞活力等密切相关。此外，6PGDH 逆境生理中具有重要作用。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 6PGDH 活性，其原理是 6PGDH 催化 6-磷酸葡萄糖酸和 NADP<sup>+</sup> 生成 NADPH，NADPH 在 340nm 有特征吸收峰，而 NADP<sup>+</sup> 没有；通过测定 340nm 吸光度增加速率来计算 6PGDH 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 支	粉剂×1 支	-20℃ 避光保存
试剂三	粉剂×1 支	粉剂×1 支	-20℃ 避光保存

### 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：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。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。**

### 实验步骤

## 产品说明书

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 3min 内吸光值变化，第 10s 吸光值记为 A<sub>1</sub>，孵育 3min 以后再测定第 190s 吸光值记为 A<sub>2</sub>。ΔA=A<sub>2</sub>-A<sub>1</sub>

### 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。

$$6PGDH(U/g \text{ 鲜重}) = [\Delta A \times V_{\text{反应}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times W) \div T = 2143.6 \times \Delta A \div W$$

#### 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。

$$6PGDH(U/mL) = [\Delta A \times V_{\text{反应}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div V_{\text{样}} \div T = 2143.6 \times \Delta A$$

#### 3. 按细胞数量计算

活力单位定义：一定温度中，每 10<sup>4</sup> 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。

$$6PGDH(U/10^4 \text{ Cells}) = [\Delta A \times V_{\text{反应}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (500 \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 2143.6 \times \Delta A \div 500 = 4.287 \times \Delta A$$

#### (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。

$$6PGDH(U/mg \text{ prot}) = [\Delta A \times V_{\text{反应}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (Cpr \times V_{\text{样}}) \div T = 2143.6 \times \Delta A \div Cpr$$

ε：NADPH 摩尔消光系数，6.22×10<sup>3</sup>L/mol/cm；d：96 孔板光径，0.5cm；V<sub>反应</sub>：反应体系总体积，200 μL=2×10<sup>-4</sup>L；10<sup>9</sup>：1mol=1×10<sup>9</sup>nmol；V<sub>样</sub>：加入反应体系中样本体积，10 μL=0.01mL；V<sub>样总</sub>：提取液体积，1mL；Cpr：上清液蛋白浓度 mg/mL；W：样品质量，g；T：反应时间，3min；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：

PMK1013 6-磷酸葡萄糖脱氢酶 (G6PDH) / 葡萄糖-6-磷酸脱氢酶检测试剂盒

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：

