

葡萄糖-6-磷酸(6PG)检测试剂盒（微量法）

货号：PMK1130

保存：-20℃避光保存 6 个月

规格：48T/96T

适用样本：动物组织、细胞、血清（浆）

产品简介

6PG (Glucose-6-phosphate, 葡萄糖-6-磷酸, 又称 6-磷酸葡萄糖), 是糖酵解和磷酸戊糖途径的中间产物, 广泛存在于动植物体和微生物中。在糖酵解的第一步反应中, 葡萄糖被己糖激酶催化生成葡萄糖-6-磷酸, 然后通过磷酸葡萄糖异构酶的催化形成果糖-6-磷酸, 以继续糖酵解的其它步骤; 而在戊糖磷酸途径中, 葡萄糖-6-磷酸是其第一个底物, 该过程也是生成 NADPH 的主要途径。此外, 葡萄糖-6-磷酸也能转化形成糖原或淀粉而被储存起来。本试剂盒提供了一种简单易用的方法, 用于测量各种生物样本中 6PG 含量。原理是 6-磷酸葡萄糖脱氢酶可催化 6PG 和 NADP⁺生成 6-磷酸葡萄糖酸和 NADPH, NADPH 在 1-mPMS 的作用下使 WST-8 显橙黄色, 在 450nm 处有最大吸收峰, 据此可计算 6PG 含量。

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	6mL	12mL	4℃ 保存
试剂二	粉剂×1 瓶	粉剂×1 瓶	-20℃ 保存
试剂三	0.75mL	1.5mL	4℃ 避光保存
标准品	粉剂×1 支	粉剂×1 支	-20℃ 保存

自备耗材

酶标仪或可见分光光度计（能测 450nm 处的吸光度）

96 孔板或微量玻璃比色皿、可调节式移液枪及枪头

恒温箱、离心机、制冰机

去离子水

匀浆器（如果是组织样本）

试剂准备

提取液：即用型；使用前，平衡到室温；4℃ 保存。

试剂一：即用型；使用前，平衡到室温；4℃ 保存。

试剂二：临用前加入 3mL 去离子水充分溶解待用，用不完的试剂分装后-20℃ 保存；避免反复冻融。

试剂三：即用型；使用前，平衡到室温；4℃ 避光保存。

工作液的配制：每孔配制 160μL 工作液，根据样本数量计算需配制工作液的量，现配现用。

测定孔和标准孔配制测定工作液：每孔吸取 100μL 试剂一，50μL 试剂二，10μL 试剂三混合。

对照孔配制对照工作液：每孔吸取 100μL 试剂一，50μL 去离子水，10μL 试剂三混合。

标准品：临用前加入 1.645mL 去离子水充分溶解得 20 μmol/mL 6-磷酸葡萄糖标准品，4℃ 保存可保存 2 周，或分装后-20℃ 保存；避免反复冻融。

产品说明书

0.5 μmol/mL 标准品配制：取 25 μL 20 μmol/mL 6-磷酸葡萄糖标准品，加 975 μL 去离子水充分溶解成 0.5 μmol/mL 标准品进行测定，现配现用。

注意：小管试剂开盖前，请先低速离心。每次实验，请使用新配制的标准品。

样本制备

动物组织：称取 0.1g 样本，加入 1mL 提取液，冰上匀浆。转移至 EP 管中，8,000g 25℃离心 10min，取上清待测。

细胞：收集 5×10^6 个细胞，用冷 PBS 清洗细胞后弃上清，加入 1mL 提取液，冰浴超声波破碎细胞 5min（功率 20%或 200W，超声 3s，间隔 7s，重复 30 次）。8,000g 25℃离心 10min，取上清待测。

血清（浆）等液体样品：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 6 个月。如需测定蛋白浓度，推荐使用 BCA 蛋白质定量试剂盒进行样本蛋白质浓度测定。

实验步骤

1. 酶标仪或可见分光光度计预热 30min 以上，调节波长到 450nm，可见分光光度计用去离子水调零。
2. 将工作液 37℃预热 10min 以上。
3. 在 96 孔板或微量玻璃比色皿中按照如下方式加样：

试剂 (μL)	测定	对照	标准	空白
样本	40	40	0	0
标准品	0	0	40	0
去离子水	0	0	0	40
测定工作液	160	0	160	160
对照工作液	0	160	0	0

混匀，37℃避光孵育 30min，记录 450nm 处吸光值 A。计算 $\Delta A_{\text{测}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ ， $\Delta A_{\text{标}} = A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}$ 。空白和标准只要做一次即可，每个样本需设置一个对照。

注意：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 $\Delta A_{\text{测}}$ 小于 0.005 可适当加大提取用样本量。如果 $\Delta A_{\text{测}}$ 大于 1.0，样本可用去离子水进一步稀释后再测定，计算结果乘以稀释倍数，或减少提取用样本量。

结果计算

1. 按样本鲜重计算

6PG 含量 (μmol/g 鲜重) = $C_{\text{标}} \times (\Delta A_{\text{测}} \div \Delta A_{\text{标}}) \times V_{\text{样}} \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \times n = 0.5 \times (\Delta A_{\text{测}} \div \Delta A_{\text{标}}) \div W \times n$

2. 按样本体积计算

6PG 含量 (μmol/mL) = $C_{\text{标}} \times (\Delta A_{\text{测}} \div \Delta A_{\text{标}}) \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样}} \times n = 0.5 \times (\Delta A_{\text{测}} \div \Delta A_{\text{标}}) \times n$

3. 按细胞数量计算

6PG 含量 (μmol/ 10^4 cell) = $C_{\text{标}} \times (\Delta A_{\text{测}} \div \Delta A_{\text{标}}) \times V_{\text{样}} \div (500 \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \times n = 0.001 \times (\Delta A_{\text{测}} \div \Delta A_{\text{标}}) \times n$

4. 按蛋白浓度计算

6PG 含量 (μmol/mg 蛋白) = $C_{\text{标}} \times (\Delta A_{\text{测}} \div \Delta A_{\text{标}}) \times V_{\text{样}} \div (V_{\text{样}} \times C_{\text{pr}}) \times n = 0.5 \times (\Delta A_{\text{测}} \div \Delta A_{\text{标}}) \div C_{\text{pr}} \times n$

$C_{\text{标}}$ ：标准品浓度，0.5 μmol/mL； $V_{\text{样}}$ ：加入样本体积，0.04mL； W ：样本质量，g； $V_{\text{样总}}$ ：样本制备时加入去离子水体积，1mL； n ：样本稀释倍数；500：细胞数量，500 万； C_{pr} ：样本蛋白浓度，mg/mL。

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：

PMK1120 己糖激酶 (HK) 检测试剂盒 (微量法)

PMK1121 丙酮酸激酶 (PK) 检测试剂盒 (微量法)

产品说明书

PMK1122 磷酸果糖激酶 (PFK) /6-磷酸果糖激酶/果糖-6-磷酸激酶检测试剂盒 (微量法)

PMK1123 磷酸烯醇式丙酮酸羧化酶 (PEPC) 检测试剂盒 (微量法)

PMK1116 丙酮酸 (PA) 检测试剂盒 (微量法)

更多产品详情了解, 请关注公众号:

