



葡萄糖-6-磷酸检测试剂盒 6PG Assay Kit

微量法

产品编号: AK406M
产品规格: 100T/48S
产品组成及保存条件:

| 编号 | 规格 | 储存条件 |
|-----------|-----------|---|
| ES406 | 60 mL×1 瓶 | 4℃保存; |
| AK406-A | 12mL×1 瓶 | 4℃保存; |
| AK406-B | 粉剂×1 瓶 | -20℃保存; |
| AK406-C | 1.5mL×1 瓶 | 4℃避光保存; |
| AK406-标准品 | 粉剂×1 支 | 临用前加入 1mL 蒸馏水, 即 10mmol/mL 的标准溶液; -20℃保存 |

※ 正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定。

简介:

意义: 葡萄糖-6-磷酸 (Glucose-6-phosphate, 6PG) 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。

原理: 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 450 nm 下测定吸光值。

自备用品:

酶标仪、台式离心机、可调式移液器、96 孔板、研钵、冰、蒸馏水。

样品处理:

1. 细菌或培养细胞: 先收集细菌或细胞到离心管内, 离心后弃上清; 按照细菌或细胞数量 (10⁴ 个): ES406 体积 (mL) 为 500~1000: 1 的比例 (建议 500 万细菌或细胞加入 1mL ES406), 超声波破碎 (冰浴, 功率 20% 或 200W, 超声 3s, 间隔 10s, 重复 30 次), 8000g, 25℃ 离心 10min, 取上清待测。
2. 组织: 按照组织质量 (g): ES406 体积 (mL) 为 1: 5~10 的比例 (建议称取约 0.1g 组织, 加入 1mL ES406), 进行冰浴匀浆, 8000g, 25℃ 离心 10min, 取上清待测。
3. 血清 (浆) 等液体样品: 直接测定。

测定步骤:

1. 酶标仪预热 30min 以上, 调节波长至 450nm, 蒸馏水调零。
2. 标准液的稀释: 将标准液用蒸馏水稀释为 200、150、100、50、20、10μmol/mL 的标准溶液。
3. AK406-B 的配制: 临用前加入 3mL 水充分溶解待用, 剩余试剂分装后-20℃保存;
4. 工作液的配制: 临用前按照样本数量, 按以下比例配制工作液

| 试剂名称 | 测定工作液 (μL) | 对照工作液 (μL) |
|---------|------------|------------|
| AK406-A | 100 | 100 |
| AK406-B | 50 | |
| 水 | | 50 |
| AK406-C | 10 | 10 |

5. 样本测定:

按下表在 96 孔板中加入如下试剂

| 试剂名称 (μL) | 测定管 | 对照管 | 标准管 | 空白管 |
|-----------|-----|-----|-----|-----|
| 样本 | 50 | 50 | | |
| 标准溶液 | | | 50 | |
| 蒸馏水 | | | | 50 |
| 测定工作液 | 150 | | 150 | 150 |
| 对照工作液 | | 150 | | |

37°C避光孵育 30min, 450nm 下测定吸光值, 分别记为 A 对照、A 测定、A 标准和 A 空白, 计算 $\Delta A_{测定} = A_{测定} - A_{对照}$, $\Delta A_{标准} = A_{标准} - A_{空白}$ 。每个测定管需设一个对照管。标准曲线和空白管只需测 1-2 次。

6PG 含量计算公式:

1. 标准曲线的绘制:

以标准液的浓度 (mg/mL) 为 x 轴, 对应的 $\Delta A_{标准}$ 为 y 轴绘制标准曲线, 得到标准方程 $y=kx+b$, 将 $\Delta A_{测定}$ 代入方程中计算得到样本浓度 (x, mg/mL)。

2. 6PG 含量的计算:

(1) 按照血清 (浆) 体积计算

$$6PG \text{ 含量 (nmol/mL)} = [x \times V1] \div V1 \times 1000 = 1000x$$

(2) 按照蛋白浓度计算

$$6PG \text{ 含量 (nmol/mg prot)} = [x \times V1] \div (V1 \times Cpr) \times 1000 = 1000x \div Cpr$$

(3) 按照样品质量计算

$$6PG \text{ 含量 (nmol/g 鲜重)} = [x \times V1] \div (W \times V1 \div V2) \times 1000 = 1000x \div W$$

(4) 按照细菌或细胞密度计算

$$6PG \text{ 含量 (nmol/10}^4 \text{ cell)} = [x \times V1] \div (500 \times V1 \div V2) \times 1000 = 2x$$

注: V1: 加入反应体系中样本体积, 0.05mL; V2: 加入提取液体积, 1 mL; 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; 1000, μmol 到 nmol 的换算系数。

※ 蛋白定量检测建议使用本公司: BCA Protein Assay Kit ([C05-02001](#))