



葡萄糖-6-磷酸检测试剂盒

6PG Assay Kit

可见分光光度法

产品编号：AK406V

产品规格：50T/24S

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	30mL×1 瓶	4℃保存；
AK406-B	粉剂×1 瓶	-20℃保存；
AK406-C	3mL×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：

分光光度计、台式离心机、可调式移液器、1mL 玻璃比色皿、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. 分光光度计预热 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 8mL 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	500	500
AK406-B	250	
水		250
AK406-C	50	50

5. 样本测定：

按下表在比色皿中加入如下试剂

试剂名称 (μL)	测定管	对照管	标准管	空白管
样本	250	250		
标准溶液			250	
蒸馏水				250
测定工作液	750		750	750
对照工作液		750		

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 ΔA 测定 = A 测定 - A 对照, ΔA 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 ΔA 标准为 y 轴绘制标准曲线, 得到标准方程 $y=kx+b$, 将 ΔA 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, 0.25mL; V2: 加入 ES406 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](#))