



## 葡萄糖-6-磷酸酶活性检测试剂盒

### G6P Assay Kit

紫外分光光度法

产品编号：AK480U

产品规格：50T/48S

产品组成及保存条件：

编号	规格	储存条件
ES480	60mL×1 瓶	4℃保存；
AK480-A	47.5 mL×1 瓶	4℃保存；
AK480-B	粉剂×1 支	-20℃保存；
AK480-C	粉剂×1 支	-20℃保存；
AK480-D	试剂×1 支	-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-磷酸酶 (glucose 6 phosphatase, G6Pase; EC 3.1.3.9) 广泛存在于动物、植物、微生物和细胞中，是糖异生过程水解葡萄糖-6-磷酸生成葡萄糖的限制酶，在保证血糖的动态平衡方面起着重要的作用。

**原理：**G6P 催化葡萄糖-6-磷酸生成葡萄糖，变旋酶和葡萄糖脱氢酶进一步依次催化 NAD<sup>+</sup>还原生成 NADH，在 340nm 下测定 NADH 生成速率，即可反映 G6P 活性。

#### 自备用品：

紫外分光光度计、台式离心机、可调式移液器、1 mL 石英比色皿、研钵、冰和蒸馏水。

#### 样本的前处理：

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（10<sup>4</sup>个）：提取液体积（mL）为 500~1000：1 的比例（建议 500 万细菌或细胞加入 1mL ES480），超声波破碎细菌或细胞（冰浴，功率 20%或 200W，超声 3s，间隔 10s，重复 30 次）；8000g 4℃离心 10min，取上清，置冰上待测。
2. 组织：按照组织质量（g）：提取液体积(mL)为 1：5~10 的比例（建议称取约 0.1g 组织，加入 1mL ES480），进行冰浴匀浆。8000g 4℃离心 10min，取上清，置冰上待测。
3. 血清（浆）样品：直接检测。

#### 测定步骤：

1. 分光光度计预热 30min 以上，调节波长至 340nm，蒸馏水调零。
2. 工作液的配制：临用前将 AK480-B, AK480-C 和 AK480-D 转移到 AK480-A 中混合溶解待用；用不完的试剂分装后-20℃保存，禁止反复冻融。
3. 将工作液置于 37℃(哺乳动物)或 25℃(其它物种)预热 5 分钟。
4. 测定操作表（在微量石英比色皿或 96 孔板中加入下列试剂）：

试剂名称	测定管 (ul)
样本	50
工作液	950
立即混匀，记录 340nm 处初始吸光值 A1 和 2min 后的吸光值 A2，计算 $\Delta A=A2-A1$ 。	

**注意：**在该试剂盒中，若  $\Delta A$  大于 0.3，需将样本用提取液稀释适当倍数后测定，使  $\Delta A$  小于 0.3 可提高检测灵敏度。计算公式中乘以相应稀释倍数。

## G6P 活性计算:

### 1. 血清（浆）G6P 活力计算

单位定义：每毫升血清（浆）每分钟生成 1 nmol NADH 定义为一个酶活力单位。

$$\text{G6P (nmol/min/mL)} = [\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div V_{\text{样}} \div T = 1608 \times \Delta A$$

### 2. 组织、细菌或细胞中 G6P 活力计算

#### (1) 按样本蛋白浓度计算

单位定义：每 mg 组织蛋白每分钟生成 1 nmol NADH 定义为一个酶活力单位。

$$\text{G6P (nmol/min/mg prot)} = [\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (V_{\text{样}} \times \text{Cpr}) \div T = 1608 \times \Delta A \div \text{Cpr}$$

#### (2) 按样本鲜重计算

单位定义：每 g 组织每分钟生成 1 nmol NADH 定义为一个酶活力单位。

$$\text{G6P (nmol/min/g 鲜重)} = [\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 1608 \times \Delta A \div W$$

#### (3) 按细菌或细胞密度计算:

单位定义：每 1 万个细菌或细胞每分钟生成 1 nmol NADH 定义为一个酶活力单位。

$$\text{G6P (nmol/min/10}^4 \text{ cell)} = [\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (500 \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 3.215 \times \Delta A$$

**注：** V 反总：反应体系总体积， $1 \times 10^{-3}$  L； $\epsilon$ ：NADH 摩尔消光系数， $6.22 \times 10^3$  L / mol / cm；d：比色皿光径，1 cm；V 样：加入样本体积，0.05 mL；V 样总：加入提取液体积，1 mL；T：反应时间，2 min；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。

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