

CheKine™ 6-磷酸葡萄糖酸脱氢酶 (6PGDH) 活性检测试剂盒 (微量法)

货号: KTB1013

规格: 48 T/48 S

96 T/96 S

批号: 见产品标签

	适用样本: 动植物组织、细胞和细菌、血清 (浆)
	保质期: -20℃, 避光保存 6 个月

01 背景与原理

磷酸戊糖途径中, 6-磷酸葡萄糖脱氢酶 (glucose 6-phosphate dehydrogenase, G6PDH) 和 6-磷酸葡萄糖酸脱氢酶 (6-phosphogluconate dehydrogenase, 6PGDH) (EC 1.1.1.44) 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 在逆境生理中具有重要作用。

本试剂盒检测原理是 6PGDH 催化 6-磷酸葡萄糖酸和 NADP⁺生成 NADPH, NADPH 在 340 nm 有特征吸收峰, 而 NADP⁺没有; 通过测定 340 nm 吸光度增加速率, 计算 6PGDH 活性。

02 包装清单

试剂盒组分	规格		储存要求
	48 T	96 T	
Extraction Buffer	60 mL	60×2 mL	4℃
Reagent I	11.4 mL	22.8 mL	4℃
Reagent II	Powder×1 vial	Powder×1 vial	-20℃, 避光保存
Reagent III	Powder×1 vial	Powder×1 vial	-20℃, 避光保存

*请在实验前检查各组分的量。

*各组分在规格基础上额外提供 10%的量用于进行标准曲线制作或预实验。

03 自备仪器与试剂

自备资源类型	资源名称	备注
仪器	酶标仪	能测 340 nm 处的吸光度
耗材	96 孔酶标板	UV 板
试剂	PBS、去离子水	样本清洗、检测体系配制用
其他	匀浆器（组织样本）、超声破碎仪、制冰机、低温离心机、水浴锅、可调节式移液枪及枪头	检测量较大时合理使用多通道移液器有助于提高实验效率

04 注意事项

- 正式检测前，建议选择 2-3 个预期差异较大的样本进行预实验。
- 对于组织样本及细胞样本等，可通过测定蛋白浓度来进行样本间结果均一化。推荐使用亚科因货号：KTD3001 的蛋白质定量试剂盒（BCA 法）。
- 本试剂盒兼容分光光度计检测，请按照分光光度计检测要求按比例调节检测试剂配制量。如有疑问，可咨询本司技术人员（400-6800-830）。
- 生化检测试剂普遍具有刺激性、生物毒性等，为了您的安全和健康，请在实验全程做好生物安全防护，穿戴实验服、口罩、手套、头套等安全护具，在通风橱、生物安全柜中进行实验。
- 本产品仅供科学研究使用，不适用于临床诊断。

05 实验流程

05-1 试剂准备

试剂名称	试剂准备	注意事项
Extraction Buffer	即用型；使用前平衡到室温	4℃保存
Reagent I	即用型；使用前平衡到室温	4℃保存
Working Solution	临用前配制，Reagent II 和 Reagent III全部转移到 Reagent I，充分混匀待用	未用完的试剂-20℃避光保存一周，避免反复冻融

05-2 样本制备

注意：推荐使用新鲜样本。样本尽量新鲜提取，如果不能当天提取，则把完整细胞或者分装的组织块保存在-80℃，一个月内使用。当准备好进行该项实验时，将样本从-80℃拿出后，冰上解冻。但是请注意，这可能会影响样本的稳定性，实验结果可能会低于预期。该试剂盒提取的动植物组织样本也可以适用于 KTB1014 的测定。

- 动物组织：称取约 0.1 g 样本，加入 1 mL Extraction Buffer，冰浴匀浆，8000 g，4℃离心 10 min，取上清置冰上待测。
- 植物组织：称取约 0.1 g 样本，加入 1 mL Extraction Buffer 捣碎，冰浴超声波破碎 5 min（功率 20%或 200 W，超声 3 s，间隔 7 s，重复 30 次），8000 g，4℃离心 10 min，取上清置冰上待测。
- 细胞或细菌：收集 2×10⁷ 个细胞或细菌，用预冷的 PBS 清洗细胞或细菌，800 g 离心 2 min，弃上清。加入 1 mL Extraction Buffer 进行冰浴超声破碎。超声波破碎 5 min（功率 20%或 200 W，超声 3 s，间隔 7 s，重复 30 次），4℃，8000 g 离心 10 min，取上清置于冰上待测。

- 血清（浆）样本：直接测定。

05-3 实验步骤

注意：因通过单位时间内吸光值变化计算酶活，不推荐同时测多个样本。

1. 酶标仪准备：预热 30 min 以上，调节波长到 340 nm。
2. Working Solution 于 37℃（哺乳动物）或 25℃（其它物种）孵育 10 min。
3. 检测体系配制：空白孔只需要做 1 次。在 96 孔 UV 板中按照如下方式操作：

试剂	空白孔（μL）	测定孔（μL）
样本	0	10
去离子水	10	0
Working Solution	190	190

吸光度检测：立即混匀测定 340 nm 处吸光值。记录第 10 s 和 3 min 10 s 时吸光值，分别记录为 A₁ 和 A₂。空白孔记为 A_空，测定孔记为 A_测。

06 结果计算

06-1 自动计算

为帮助您更轻松、准确地完成相关计算，我们特在官网提供了“在线计算器小工具”。您无需手动计算，只需在网页上输入数值，即可快速获得可靠结果。访问方式：请扫描右侧二维码或访问官网[\[https://www.abbkine.cn\]](https://www.abbkine.cn) > 进入“技术中心”> 查找“在线计算器”工具。



06-2 手动计算

以下为您提供的推导过程计算公式和简洁计算公式，两者完全相等。

1. 数据处理

计算 $\Delta A_{空}=A_{2空}-A_{1空}$ ， $\Delta A_{测}=A_{2测}-A_{1测}$ ， $\Delta\Delta A=\Delta A_{测}-\Delta A_{空}$ 。

2. 样本 6PGDH 活性计算

- 按样本质量计算

单位的定义：每 g 组织质量每分钟生成 1 nmol 的 NADPH 定义为一个酶活力单位。

$$6PGDH(U/g)=[\Delta\Delta A\times V_{反总}\div(\epsilon\times d)\times 10^9]\div(W\div V_{提取}\times V_{样本})\div T=2144\times\Delta\Delta A\div W$$

- 按细胞或细菌数量计算：

单位的定义：每 1 万个细胞或细菌每分钟生成 1 nmol 的 NADPH 定义为一个酶活力单位。

$$6PGDH(U/10^4)=[\Delta\Delta A\times V_{反总}\div(\epsilon\times d)\times 10^9]\div(V_{样本}\div V_{提取}\times N)\div T=2144\times\Delta\Delta A\div N$$

- 按液体体积计算

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

$$6PGDH(U/mL)=\Delta\Delta A\times V_{反总}\div(\epsilon\times d)\times 10^9\div V_{样本}\div T=2144\times\Delta\Delta A$$

- 按蛋白浓度计算

单位的定义：每 mg 组织蛋白每分钟生成 1 nmol 的 NADPH 定义为一个酶活力单位。

$$6PGDH(U/mg\ prot)=[\Delta\Delta A\times V_{反总}\div(\epsilon\times d)\times 10^9]\div(V_{样本}\times Cpr)\div T=2144\times\Delta\Delta A\div Cpr$$

V_{反总}：反应体系总体积，0.2 mL=2×10⁻⁴ L，V_{提取}：提取液体积，1 mL；V_{样本}：反应体系中上清液体积，0.01 mL；ε：NADPH 摩尔消光系数，6.22×10³ L/mol/cm；d：96 孔板直径，0.5 cm；Cpr：蛋白浓度（mg/mL）；T：反应时间，3 min；W：样本质量，g；N：N：细胞或细菌数量，以 10⁴ 为单位（例如细胞数量为 2×10⁷，N=2000）；10⁹：单位换算系数，1 mol=10⁹ nmol。

07 结果展示

示例-1: 取 0.1 g 小鼠脑, 按照测定步骤操作, 用 96 孔 UV 板进行检测。测得 $\Delta A_{测}=A_{2测}-A_{1测}=0.152-0.138=0.014$, $\Delta A_{空}=A_{2空}-A_{1空}=0.119-0.116=0.003$, $\Delta\Delta A=\Delta A_{测}-\Delta A_{空}=0.011$ 。按样本质量计算得: 6PGDH (U/g)= $2144\times\Delta\Delta A\div W=235.84$ U/g。

08 FAQ

- 检测得到的样本 $\Delta\Delta A$ 过高或者过低怎么办?
如果样本的 $\Delta\Delta A$ 小于 0.01, 可适当增大样本量, 如果 $\Delta\Delta A$ 大于 0.5, 样本可用 Extraction Buffer 进一步稀释, 或减少提取用样本量, 再重新进行测定。

09 相关产品

货号	试剂盒名称
KTB1023	CheKine™ 柠檬酸合酶 (CS) 活性检测试剂盒 (微量法)
KTB1230	CheKine™ 琥珀酸脱氢酶 (SDH) 活性检测试剂盒 (微量法)
KTB1240	CheKine™ α-酮戊二酸脱氢酶 (α-KGDH) 活性检测试剂盒 (微量法)
KTB1270	CheKine™ 丙酮酸脱氢酶 (PDH) 活性检测试剂盒 (微量法)

CheKine™ 6-磷酸葡萄糖酸脱氢酶（6PGDH）活性检测流程示意图

(Abbking 货号：KTB1013)

