

CheKine™ 葡萄糖-6-磷酸酶 (G6P) 活性检测试剂盒 (微量法)

Cat #: KTB1014

Size: 48 T/48 S 96 T/96 S

	葡萄糖-6-磷酸酶 (G6P) 活性检测试剂盒 (微量法)		
REF	货号: KTB1014	LOT	批号: 见产品标签
	适用样本: 动物组织、植物组织、细胞、血清 (浆)		
	保质期: 4°C, 保存 12 个月		

原理

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。CheKine™ 葡萄糖-6-磷酸酶 (G6P) 活性检测试剂盒 (微量法) 提供了一种简单的检测方法, 用于检测生物样本, 如动物组织、植物组织、细胞、血清 (浆) 样本中 G6P 的活性。G6P 催化葡萄糖-6-磷酸生成葡萄糖, 葡萄糖氧化酶进一步催化生成过氧化氢, 利用 Trinder 反应最终生成酰亚胺化合物, 测定该化合物在 554 nm 处的吸光度变化速率, 即可反映 G6P 活性。

包装清单

试剂盒组分	规格		储存条件
	48 T	96 T	
Extraction Buffer	60 mL	120 mL	4°C
Reagent I	6 mL	12 mL	4°C
Reagent II	6 mL	12 mL	4°C

注意: 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。

自备耗材

- 酶标仪 (能测 554 nm 处的吸光度)
- 恒温箱、低温离心机
- 96 孔酶标板、可调节式移液枪及枪头
- 匀浆器 (如果是组织样本)

试剂准备

Extraction Buffer: 即用型; 使用前, 平衡到室温; 4°C 保存。

Reagent I: 即用型; 使用前, 平衡到室温; 4°C 保存。

Reagent II: 即用型; 使用前, 平衡到室温; 4°C 保存。

样本制备

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1个月。

1. 动物组织或植物组织：称取约0.1 g 样本，加入1 mL Extraction Buffer，冰浴匀浆，12,000 g，4℃离心10 min，取上清液，置冰上待测。
2. 细胞：收集约500万细胞到离心管内，用冷PBS清洗细胞，离心后弃上清，加入1 mL Extraction Buffer，冰浴超声波破碎细胞5 min（功率20%或200W，超声3 s，间隔7 s，重复30次），然后12,000g，4℃离心10 min，取上清液，置冰上待测。
3. 血清（浆）等液体：直接测定。

注意：如需测定蛋白浓度，推荐使用 Abbkine 货号：KTD3001 的蛋白质定量试剂盒（BCA 法）进行样本蛋白质浓度测定。

实验步骤

1. 酶标仪预热30 min 以上，调节波长至554 nm。
2. 96孔微孔板中加入5 μL 样本，100 μL Reagent I，迅速混匀后在37℃孵育10 min。
3. 继续向反应孔中加入100 μL Reagent II，迅速混匀后在37℃孵育。
4. 用酶标仪在554 nm 下测定5 min 时的吸光值A₁和10 min 时的吸光值A₂，计算ΔA=A₂-A₁。

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ΔA 小于0.001 可适当加大样本量。如果ΔA 大于0.3，样本可用Extraction Buffer 进一步稀释，计算结果乘以稀释倍数，或减少提取用样本量。

结果计算

注意：我们为您提供的计算公式，包括推导过程计算公式和简洁计算公式。两者完全相等。建议以加粗的简洁计算公式为最终计算公式。

1. 血清（浆）中G6P活力的计算：

单位的定义：每mL血清（浆）在反应体系中每分钟消耗1 nmol 的葡萄糖-6-磷酸底物的酶量定义为一个酶活力单位。

$$\text{G6P (U/mL)} = [\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^3] \div V_{\text{样}} \div 0.5 \div T = 418.37 \times \Delta A$$

2. 组织中G6P活力的计算：

（1）按样本蛋白浓度计算：

单位的定义：每mg组织蛋白在反应体系中每分钟消耗1 nmol 的葡萄糖-6-磷酸底物的酶量定义为一个酶活力单位。

$$\text{G6P (U/mg prot)} = [\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^3] \div (\text{Cpr} \times V_{\text{样}}) \div 0.5 \div T = 418.37 \times \Delta A \div \text{Cpr}$$

（2）按样本鲜重计算：

单位的定义：每g组织在反应体系中每分钟消耗1 nmol 的葡萄糖-6-磷酸底物的酶量定义为一个酶活力单位。

$$\text{G6P (U/g 鲜重)} = [\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^3] \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times W) \div 0.5 \div T = 418.37 \times \Delta A \div W$$

3. 细胞中G6P活力的计算：

单位的定义：每10⁴个细胞在反应体系中每分钟消耗1 nmol 的葡萄糖-6-磷酸底物的酶量定义为一个酶活力单位

$$\text{G6P (U/10}^4\text{个细胞)} = [\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^3] \div V_{\text{样}} \div 0.5 \div T \div N = 418.37 \times \Delta A \div N$$

V_{反总}：反应体系总体积，0.205 mL；ε：生色基团毫摩尔消光系数，39.2 cm²/μmol；d：光径，1.0 cm；10³：1 μmol=1×10³ nmol；

V_样：加入样本体积，0.005 mL；V_{样总}：加入提取液体积，1 mL；0.5：产生的1摩尔过氧化氢得到0.5摩尔生色基团；T：反应时间，5 min；Cpr：样本蛋白质浓度，mg/mL；W：样品质量；N：细胞数量，以10⁴为单位（例如细胞数量为5×10⁶，N=500）。

相关产品

Catalog No.	Product Name
KTB1110	CheKine™ 乳酸脱氢酶（LDH）活性检测试剂盒（微量法）
KTB1300	CheKine™ 葡萄糖含量检测试剂盒（微量法）

免责声明

本产品仅供科学研究使用，不适用于临床诊断。为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。