

CheKine™ 葡萄糖-6-磷酸脱氢酶 (G6PDH) 活性检测试剂盒 (微量法)

货号: KTB1011

规格: 48 T/48 S

96 T/96 S

批号: 见产品标签

	适用样本: 血清 (浆)、动植物组织、细胞、细菌
	保质期: 4℃, 避光保存 12 个月

01 背景与原理

葡萄糖-6-磷酸脱氢酶 (G6PD 或 G6PDH) (EC 1.1.1.49) 是一种催化化学反应的胞质酶。该酶参与戊糖磷酸途径, 这是一种通过维持 NADPH 水平, 向细胞 (如红细胞) 提供还原能量的代谢途径。NADPH 反过来维持这些细胞中谷胱甘肽的水平, 保护红细胞免受过氧化氢等化合物的氧化损伤。

本试剂盒检测原理是样本中存在的 G6PDH 将 NADP^+ 转化为 NADPH, NADPH 在 340 nm 处有特征吸收峰。NADPH 的吸光度值与样本中存在的 G6PDH 活性成正比。

02 包装清单

试剂盒组分	规格		储存要求
	48 T	96 T	
Assay Buffer	70 mL	70 mL×2	4℃
6-Phosphogluconic Acid	Powder×1 vial	Powder×1 vial	4℃, 避光保存
NADP ⁺	Powder×1 vial	Powder×1 vial	4℃, 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	清洗样本/检测用
其他	匀浆器 (组织样本)、超声破碎仪、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

05-1-1 试剂准备

试剂名称	试剂准备	注意事项
Assay Buffer	临用前；根据实验用量置于 25℃ 或者 37℃ 水浴预热 30 min 以上	4℃ 保存
6-Phosphogluconic Acid Working Reagent	临用前配制；用 2.4 mL Assay Buffer 溶解管内组分，混合均匀	实验过程中避光冰上放置；未用完的试剂 4℃ 避光可保存 1 周
NADP ⁺ Working Reagent	临用前配制；用 2.4 mL Assay Buffer 溶解管内组分，混合均匀	实验过程中避光冰上放置；未用完的试剂 4℃ 避光可保存 1 周

05-2 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。

- **动植物组织**：称取约 0.1 g 组织样本，加入 1 mL Assay Buffer，冰浴匀浆，8000 g，4℃ 离心 10 min，取上清液，置冰上待测。
- **细菌或细胞**：收集 2×10^7 个细菌或细胞，用冷 PBS 清洗细菌或细胞，12000 g，4℃ 离心 1 min，弃上清。加入 1 mL Assay Buffer，冰浴超声波破碎细菌或细胞 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，取上清液，置冰上待测。
- **血清（浆）**：直接检测。

05-3 实验步骤

1. 酶标仪准备：预热 30 min 以上，调节波长到 340 nm。
2. 检测体系配制：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	20
去离子水	20	0
Assay Buffer	140	140
6-Phosphogluconic Acid Working Reagent	20	20
NADP ⁺ Working Reagent	20	20

3. 吸光度检测：混匀后，记录 340 nm 处 10 s 时的吸光值 A_1 ，和 190 s 时的吸光值 A_2 。测定孔记为 $A_{\text{测定}}$ ，空白孔记为 $A_{\text{空白}}$ 。

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 $\Delta A_{\text{空白}} = A_{2\text{空白}} - A_{1\text{空白}}$ ， $\Delta A_{\text{测定}} = A_{2\text{测定}} - A_{1\text{测定}}$ ， $\Delta\Delta A_{\text{测定}} = \Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}$ 。

2. 样本 G6PDH 活力的计算：

● 按样本鲜重计算：

单位的定义：每 g 组织每分钟催化产生 1 μmol NADPH 的酶量定义为一个酶活力单位。

$$\text{G6PDH (U/g)} = [\Delta\Delta A_{\text{测定}} \times V_{\text{反应}} \div (\epsilon \times d) \times 10^6] \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times W) \div T = 1.0718 \times \Delta\Delta A_{\text{测定}} \div W$$

● 按细菌或细胞数量计算

单位的定义：每 1 万个细菌或细胞每分钟催化产生 1 μmol NADPH 的酶量定义为一个酶活力单位。

$$\text{G6PDH (U/10}^4\text{)} = [\Delta\Delta A_{\text{测定}} \times V_{\text{反应}} \div (\epsilon \times d) \times 10^6] \div (N \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 1.0718 \times \Delta\Delta A_{\text{测定}} \div N$$

● 按液体体积计算

单位的定义：每 mL 血清（浆）每分钟催化产生 1 μmol NADPH 的酶量定义为一个酶活力单位。

$$\text{G6PDH (U/mL)} = [\Delta\Delta A_{\text{测定}} \times V_{\text{反应}} \div (\epsilon \times d) \times 10^6] \div V_{\text{样}} \div T = 1.0718 \times \Delta\Delta A_{\text{测定}}$$

● 按蛋白浓度计算

单位的定义：每 mg 组织蛋白每分钟催化产生 1 μmol NADPH 的酶量定义为一个酶活力单位。

$$\text{G6PDH (U/mg prot)} = [\Delta\Delta A_{\text{测定}} \times V_{\text{反应}} \div (\epsilon \times d) \times 10^6] \div (\text{Cpr} \times V_{\text{样}}) \div T = 1.0718 \times \Delta\Delta A_{\text{测定}} \div \text{Cpr}$$

ϵ ：NADPH 摩尔消光系数， $6.22 \times 10^3 \text{ L/mol/cm}$ ； d ：96 孔 UV 板光径，0.5 cm； 10^6 ：1 mol = $10^6 \mu\text{mol}$ ； $V_{\text{样}}$ ：加入样本体积，0.02 mL； $V_{\text{反应}}$ ：反应体系总体积，0.0002 L；Cpr：样本蛋白质浓度，mg/mL； $V_{\text{样总}}$ ：样本制备加入 Assay Buffer 体积，1 mL； W ：样本鲜重，g； T ：反应时间，3 min； N ：细胞或细菌数量，以 10^4 为单位（例如细胞数量为 2×10^7 ， $N=2000$ ）。

07 结果展示

示例-1：取 0.1 g 小鼠肾，按照测定步骤操作，用 96 孔 UV 板进行检测。测得 $\Delta A_{\text{空白}} = A_{2\text{空白}} - A_{1\text{空白}} = 0.047 - 0.048 = -0.001$ ， $\Delta A_{\text{测定}} = A_{2\text{测定}} - A_{1\text{测定}} = 0.653 - 0.579 = 0.074$ ， $\Delta\Delta A_{\text{测定}} = \Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}} = 0.074 - (-0.001) = 0.075$ 。按样本鲜重计算得：G6PDH (U/g) = $1.0718 \times \Delta\Delta A_{\text{测定}} \div W = 0.804 \text{ U/g}$ 。

08 FAQ

● 检测得到的样本 $\Delta\Delta A_{\text{测定}}$ 过高或者过低怎么办？

如果样本 $\Delta\Delta A_{\text{测定}} > 0.6$ ，样本需用 Assay Buffer 适当稀释，再重新测定，或减少提取用样本量。如果样本的 $\Delta A_{\text{测定}} < 0.01$ ，可适当提高样本量。

09 相关产品

货号	试剂盒名称
KTB1010	CheKine™ 辅酶 II NADP(H) 含量检测试剂盒（微量法）
KTB1600	CheKine™ 还原型谷胱甘肽（GSH）含量检测试剂盒（微量法）
KTB1610	CheKine™ 氧化型谷胱甘肽（GSSG）含量检测试剂盒（微量法）

CheKine™ 葡萄糖-6-磷酸脱氢酶 (G6PDH) 活性检测流程示意图

(Abbkine 货号 : KTB1011)

