

## 6-磷酸葡萄糖酸脱氢酶（6PGDH）活性检测试剂盒 （紫外分光光度法）

产品货号：BA1007

产品规格：50管/48样

### 产品简介：

磷酸戊糖途径途径中6-磷酸葡萄糖脱氢酶（G6PDH）和6-磷酸葡萄糖酸脱氢酶（6PGDH）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逆境生理中具有重要作用。

6PGDH催化6-磷酸葡萄糖酸和 NADP<sup>+</sup>生成NADPH，NADPH在340nm有特征吸收峰，而NADP<sup>+</sup>没有；通过测定340nm吸光度增加速率，计算6PGDH活性。

**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。如果样本吸光值不在测量范围内建议稀释或者增加样本量进行检测。

### 产品组成：

| 产品组成 | 规格         | 保存条件 |
|------|------------|------|
| 试剂一  | 液体100mL×2瓶 | 4℃   |
| 试剂二  | 粉剂×1支      | -20℃ |
| 试剂三  | 粉剂×1支      | 4℃   |

溶液的配制：

1. 试剂二：临用前配制，加入5mL试剂一，混匀；
2. 试剂三：临用前配制，加入5mL试剂一，混匀。

### 需自备的仪器和用品：

紫外分光光度计、低温离心机、水浴锅、可调式移液枪、1mL石英比色皿、研钵/匀浆器、蒸馏水。

### 操作步骤（仅供参考）：

#### 一、样本处理（可适当调整待测样本量，具体比例可以参考文献）

称约0.1g组织，加入1mL试剂一，冰上充分研磨，10000rpm 4℃离心10min，取上清粗酶液，待测。

#### 二、测定步骤

1. 紫外分光光度计预热30min以上，调节波长到340nm，蒸馏水调零。
2. 试剂一置于37℃水浴预热30min以上。
3. 加样表：（在比色皿依次加入）

| 试剂名称（μL） | 测定管 | 空白管 |
|----------|-----|-----|
| 样本       | 100 | -   |
| 蒸馏水      | -   | 100 |
| 试剂一      | 700 | 700 |
| 试剂二      | 100 | 100 |
| 试剂三      | 100 | 100 |

于340nm处测定3min内吸光值变化，第0s吸光值记为A1，第180s吸光值记为A2。记  $\Delta A_{\text{测定}} = A2_{\text{测定}} - A1_{\text{测定}}$ ， $\Delta A$



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司

Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话：400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱：saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com

空白=A2空白-A1空白。

### 三、6PGDH活力单位的计算

#### (1) 按蛋白浓度计算

活性单位定义：每毫克蛋白每分钟催化产生1nmol NADPH的酶量为1个酶活单位。

$$\begin{aligned} 6PGDH酶活性(U/mg\ prot) &= [(\Delta A_{测定} - \Delta A_{空白}) \div (\epsilon \times d) \times 10^9 \times V_{反总}] \div (C_{pr} \times V_{样}) \div T \\ &= 536 \times (\Delta A_{测定} - \Delta A_{空白}) \div C_{pr} \end{aligned}$$

#### (2) 按样本质量计算

活性单位定义：每克组织每分钟催化产生1nmol NADPH的酶量为1个酶活单位。

$$\begin{aligned} 6PGDH酶活性(U/g质量) &= [(\Delta A_{测定} - \Delta A_{空白}) \div (\epsilon \times d) \times 10^9 \times V_{反总}] \div (W \div V_{样总} \times V_{样}) \div T \\ &= 536 \times (\Delta A_{测定} - \Delta A_{空白}) \div W \end{aligned}$$

$\epsilon$ ：NADPH摩尔消光系数， $6.22 \times 10^3 L/mol/cm$ ； $d$ ：比色皿光径，1cm； $V_{反总}$ ：反应体系总体积，0.001L； $C_{pr}$ ：粗酶液蛋白质浓度，mg/mL，需要另外测定； $V_{样}$ ：反应体系中加入粗酶液体积，0.1mL； $V_{样总}$ ：提取液体积，1mL； $T$ ：反应时间，3min； $W$ ：样本质量，g。

#### 注意事项：

1. 样本处理等过程均需要在冰上进行，且须在提取当日完成酶活性测定，粗酶液避免反复冻融；
2. 试剂二和试剂三须现配现用，当天未用完试剂保存在4℃，可保存1周。
3. 若样本初始（0s）读值大于0.5且 $\Delta A$ 测定小于0.1，可尝试将样本进行稀释后测定。



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司

Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话：400-611-0007 13671551480

Q Q：807961520

邮箱：saintbio@126.com

<http://www.saint-bio.com>