

葡萄糖-6-磷酸酶 (G6P) 检测试剂盒 (微量法)

产品货号: BA1251

产品规格: 100管/48样

产品简介:

葡萄糖-6-磷酸酶 (glucose 6 phosphatase, G6Pase, EC3.1.3.9) 是一种水解磷酸化化合物的磷酸酶, 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。

G6P催化葡萄糖-6-磷酸生成葡萄糖和无机磷, 利用钼蓝法测定无机磷含量的增加, 即可反映G6P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:

试剂名称	规格	保存条件
提取液	液体60mL×1瓶	4°C
试剂一	液体12mL×1瓶	4°C
试剂二	粉剂×2瓶	4°C
试剂三	粉剂×1瓶	4°C
试剂四	粉剂×1瓶	4°C
试剂五	液体4mL×1瓶	4°C
标准品	液体1mL×1支	4°C

溶液的配制:

1. 试剂三: 临用前用4mL蒸馏水溶解备用。
2. 试剂四: 临用前用4mL蒸馏水溶解备用。
3. 标准品: 10 μ mol/mL磷标准液。临用前用蒸馏水稀释16倍至0.625 μ mol/mL的标准溶液备用。
4. 工作液的配制: 试剂二中加入5mL试剂一充分溶解备用。可以将工作液分装后-20°C保存, 禁止反复冻融。
5. 定磷试剂的配制: 按H₂O:试剂三:试剂四:试剂五 (V:V:V:V)=2:1:1:1的比例配制, 配好的定磷剂应为浅黄色。若无色则试剂失效, 若是蓝色则为磷污染, 定磷剂现用现配。

注意: 配试剂最好用新的烧杯、玻棒和玻璃移液器, 也可以用一次性塑料器皿, 避免磷污染。

需自备的仪器和用品:

可见分光光度计/酶标仪、低温台式离心机、水浴锅、微量玻璃比色皿/96孔板、可调式移液枪、研钵/匀浆器、EP管、冰和蒸馏水。

操作步骤:

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)

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 (10⁴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 提取液), 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°C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 提取液),



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

进行冰浴匀浆。8000g 4°C离心 10min，取上清，置冰上待测。

3. 血清（浆）样本：直接检测。

二、测定步骤

1. 分光光度计/酶标仪预热30min以上，调节波长至660nm，蒸馏水调零。

2. 操作表：

	测定管	对照管	标准管	空白管
样本（ μL ）	20	20		
工作液（ μL ）	80			
充分混匀，37°C（哺乳动物）或者25°C（其他物种）水浴反应10min。反应后迅速放入沸水中沸水浴10min。取出冷却至常温				
工作液（ μL ）	-	80		
10000rpm常温离心10min后取上清。				
上清液（ μL ）	25	25	-	-
标准溶液（ μL ）	-	-	25	-
定磷试剂（ μL ）	125	125	125	125
蒸馏水（ μL ）	100	100	100	125
充分混匀，40°C反应10min。吸取200 μL 于微量玻璃比色皿或者96孔板中，测量660nm处吸光值，测定管、对照管、空白管、标准管测定的吸光度分别记为A测定管、A对照管、A空白管、A标准管。计算 $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}}$ ， $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准管}} - A_{\text{空白管}}$ 。				

三、G6P活性计算

1. 血清（浆）G6P活力计算

单位定义：每mL血清（浆）每分钟生成1nmol无机磷定义为一个酶活力单位。

$$\text{G6P (U/mL)} = \Delta A \div (\Delta A_{\text{标准}} \div C_{\text{标准}}) \times 1000 \times V_{\text{酶促}} \div V_{\text{样本}} \div T = 312.5 \times \Delta A \div \Delta A_{\text{标准}}$$

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1nmol无机磷定义为一个酶活力单位。

$$\text{G6P (U/mg prot)} = \Delta A \div (\Delta A_{\text{标准}} \div C_{\text{标准}}) \times 1000 \times V_{\text{酶促}} \div (C_{\text{pr}} \times V_{\text{样本}}) \div T = 312.5 \times \Delta A \div \Delta A_{\text{标准}} \div C_{\text{pr}}$$

(2) 按样本质量计算：

单位定义：每g组织每分钟生成1nmol无机磷定义为一个酶活力单位。

$$\text{G6P (U/g质量)} = \Delta A \div (\Delta A_{\text{标准}} \div C_{\text{标准}}) \times 1000 \times V_{\text{酶促}} \div (W \div V_{\text{提取}} \times V_{\text{样本}}) \div T = 312.5 \times \Delta A \div \Delta A_{\text{标准}} \div W$$

(3) 按细菌或细胞数量计算：

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

$$\text{G6P (U/10}^4\text{cell)} = \Delta A \div (\Delta A_{\text{标准}} \div C_{\text{标准}}) \times 1000 \times V_{\text{酶促}} \div (500 \div V_{\text{提取}} \times V_{\text{样本}}) \div T = 0.625 \times \Delta A \div \Delta A_{\text{标准}}$$

C标准：标准溶液浓度，0.625 $\mu\text{mol/mL}$ ；V酶促：酶促反应总体积，0.1mL；V样：加入样本体积，0.02mL；

V提取：加入提取液体积，1mL；T：反应时间，10min；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；1000：单位换算系数，1 μmol =1000nmol。

注意事项：

1. 建议将样本用提取液稀释后再进行测定，并在计算公式中乘以稀释倍数。
2. 若A大于1.5或者显色完成后有沉淀产生，将上清液或者粗酶液用蒸馏水稀释后再进行测定。
3. 定磷试剂应现配现用，正常颜色为浅黄色，如有变色或变蓝则均为失效。

实验实例：

1. 取0.1g稗草加入1mL提取液进行匀浆研磨，取上清后按照测定步骤操作，用96孔板测得A测定管=0.254、A对



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

照管=0.171、A空白管=0.047、A标准管=0.357，计算 $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}} = 0.254 - 0.171 = 0.083$ ， $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准管}} - A_{\text{空白管}} = 0.357 - 0.047 = 0.31$ ，按样本质量计算酶活得：

$G6P \text{ (U/g质量)} = 312.5 \times \Delta A \div \Delta A_{\text{标准}} \div W = 312.5 \times 0.083 \div 0.31 \div 0.1 = 836.6935 \text{ U/g质量}$ 。

2. 取0.1g小鼠肝脏加入1mL提取液进行匀浆研磨，取上清后按照测定步骤操作，用96孔板测得A测定管=0.995、A对照管=0.384、A空白管=0.047、A标准管=0.357，计算 $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}} = 0.995 - 0.384 = 0.611$ ， $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准管}} - A_{\text{空白管}} = 0.357 - 0.047 = 0.31$ ，按样本质量计算酶活得：

$G6P \text{ (U/g质量)} = 312.5 \times \Delta A \div \Delta A_{\text{标准}} \div W = 312.5 \times 0.611 \div 0.31 \div 0.1 = 6159.274 \text{ U/g质量}$ 。

3. 取0.1g小鼠血清稀释2倍，直接检测，用96孔板测得A测定管=0.38、A对照管=0.199、A空白管=0.047、A标准管=0.357，计算 $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}} = 0.38 - 0.199 = 0.181$ ， $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准管}} - A_{\text{空白管}} = 0.357 - 0.047 = 0.31$ ，按血清计算酶活得：

$G6P \text{ (U/mL)} = 312.5 \times \Delta A \div \Delta A_{\text{标准}} \times \text{稀释倍数} = 312.5 \times 0.181 \div 0.31 \times 2 = 364.9194 \text{ U/mL}$ 。

相关发表文献：

[1] Fan X, Hou T, Jia J, et al. Discrepant dose responses of bisphenol A on oxidative stress and DNA methylation in grass carp ovary cells[J]. Chemosphere, 2020, 248: 126110.



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>