

葡萄糖-6-磷酸(6PG)测试盒（微量法）

正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定。

产品货号：BA2368

产品规格：100管/48样

测定意义：

6PG (Glucose-6-phosphate, 葡萄糖-6-磷酸, 又称 6-磷酸葡萄糖), 是糖酵解和磷酸戊糖途径的中间产物, 广泛存在于动植物体和微生物中。在糖酵解的第一步反应中, 葡萄糖被己糖激酶催化生成葡萄糖-6-磷酸, 然后通过磷酸葡萄糖异构酶的催化形成果糖-6-磷酸, 以继续糖酵解的其它步骤; 而在戊糖磷酸途径中, 葡萄糖-6-磷酸是其第一个底物, 该过程也是生成 NADPH 的主要途径。此外, 葡萄糖-6-磷酸也能转化形成糖原或淀粉而被储存起来。

测定原理：

6-磷酸葡萄糖脱氢酶可催化 6PG 和 NADP^+ 生成 6 磷酸葡萄糖酸和 NADPH, NADPH 在 1-mPMS 的作用下使 WST-8 显橙黄色, 在 450nm 下测定吸光值。

需自备的仪器和用品：

酶标仪、台式离心机、可调式移液器、96 孔板、研钵、冰、蒸馏水。

试剂的组成和配制：

- 提取液：液体 60mL×1 瓶, 4℃ 保存;
- 试剂一：液体 12mL×1 瓶, 4℃ 保存;
- 试剂二：粉剂×1 瓶, -20℃ 保存;
- 试剂三：液体 1.5mL×1 管, 4℃ 避光保存。

6PG 提取：

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 (10^4 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 (冰浴, 功率 20% 或 200W, 超声 3s, 间隔 10s, 重复 30 次), 8000g, 25℃ 离心 10min, 取上清待测。
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), 进行冰浴匀浆, 8000g, 25℃ 离心 10min, 取上清待测。
3. 血清 (浆) 等液体样品：直接测定。

测定步骤：

1. 酶标仪预热 30min 以上, 调节波长至 450nm。
2. 试剂二的配制：临用前加入 3mL 水充分溶解待用, 用不完的试剂分装后 -20℃ 保存;
3. 工作液的配制：临用前按照样本数量, 按以下比例配制工作液：



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

试剂名称 (μL)	测定工作液	对照工作液
试剂一	100	100
试剂二	50	
水		50
试剂三	10	10

4. 样本测定

按下表在 96 孔板中加入如下试剂

试剂名称 (μL)	测定管	对照管
样本	50	50
测定工作液	150	
对照工作液		150

37°C 避光孵育 30min, 450nm 下测定吸光值 A 测定与 A 对照, $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ 。每个测定管需设一个对照管。

6PG 含量计算:

1. 标准条件下测定回归方程为 $y = 3.8589x - 0.0016$, $R^2 = 0.997$; x 为 6PG 含量 (μmol/mL), y 为吸光值。

2. 按照血清 (浆) 体积计算

$$6\text{PG 含量 (nmol/mL)} = [(\Delta A + 0.0016) \div 3.8589 \times V_1] \div V_1 \times 1000 = 259.1 \times (\Delta A + 0.0016)$$

3. 按照蛋白浓度计算

$$6\text{PG 含量 (nmol/mg prot)} = [(\Delta A + 0.0016) \div 3.8589 \times V_1] \div (V_1 \times C_{\text{pr}}) \times 1000 = 259.1 \times (\Delta A + 0.0016) \div C_{\text{pr}}$$

4. 按照样品质量计算

$$6\text{PG 含量 (nmol/g 鲜重)} = [(\Delta A + 0.0016) \div 3.8589 \times V_1] \div (W \times V_1 \div V_2) \times 1000 = 259.1 \times (\Delta A + 0.0016) \div W$$

5. 按照细菌或细胞密度计算

$$6\text{PG 含量 (nmol/10}^4 \text{ cell)} = [(\Delta A + 0.0016) \div 3.8589 \times V_1] \div (500 \times V_1 \div V_2) \times 1000 = 0.518 \times (\Delta A + 0.0016)$$

V1: 加入反应体系中样本体积, 0.05mL; V2: 加入提取液体积, 1mL; 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, μmol 到 nmol 的换算系数。



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