北京沃凯生物科技有限公司
全国免费电话:400-819-385
www.bjoka-vip.com
Tel:010-62971590. Fax:62340519
M-ail:postmaster@oka-vip.com

葡萄糖-6-磷酸(Glucose 6-phosphate， 6PG)含量测定试剂盒说明书

酶标法 48 样

一、产品说明

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。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 450 nm 下测定吸光值。

二、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。

三、试剂的组成和配制

试剂名称	规格	保存温度	配置	备注
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×2 瓶	-20℃保存	临用前每瓶加入 3mL 蒸馏水	现配现用
试剂三	液体 1.5mL×1 瓶	4℃保存		

四、样本制备

建议正式实验前取 2 个样本做预测定，了解本批样本含量情况，熟悉实验流程，避免实验样本和试剂浪费！

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；建议取 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：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。

五、测定步骤

1、酶标仪预热 30min 以上，调节波长至 450nm。

2、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

试剂名称（μL）	测定工作液	对照工作液
试剂一	100	100
试剂二	50	
蒸馏水		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
上清液	50	50
测定工作液	150	
对照工作液		150
37℃避光孵育 30min，450nm 下测定吸光值 A 测定与 A 对照，△A=A 测定-A 对照。		

每个测定管需设一个对照管。

六、计算公式

1、标准曲线为 y = 3.8589x - 0.0016，R^2 = 0.997； x 为 6PG 含量（μmol/mL），y 为△A。

2、按照血清（浆）体积计算

6PG 含量（nmol/mL）= [(△A+0.0016)÷3.8589×V1]÷V1×1000

=259.1×(△A+0.0016)

3、按照蛋白浓度计算

6PG 含量（nmol/mg prot）= [(△A+0.0016)÷3.8589×V1]÷(V1×Cpr)×1000

=259.1×(△A+0.0016) ÷Cpr

4、按照样品质量计算

6PG 含量（nmol/g 鲜重）= [(△A+0.0016)÷3.8589×V1]÷(W ×V1÷V2）×1000

=259.1×(△A+0.0016) ÷W

3、按照细菌或细胞密度计算

6PG 含量（nmol/10^4 cell）= [(△A+0.0016)÷3.8589×V1]÷（500×V1÷V2）×1000

=0.518×(△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，1 mL； 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。