

6-磷酸葡萄糖酸脱氢酶（6PGDH）活性检测试剂盒（微量法）

产品货号：BA1008

产品规格：100管/96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⁺生成NADPH，NADPH在340nm有特征吸收峰，而NADP⁺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60mL×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2.2 mL试剂一，混匀；
2. 试剂三：临用前配制，加入2mL试剂一，混匀

需自备的仪器和用品：

低温离心机、水浴锅、可调式移液枪、紫外分光光度计/酶标仪、微量石英比色皿/96孔UV板、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/酶标仪预热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：（在微量石英比色皿/96孔UV板中依次加入）

试剂名称（ μ L）	测定管	空白管
样本	20	-
蒸馏水	-	20
试剂一	140	140
试剂二	20	20
试剂三	20	20

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 $\Delta A_{测定} = A2_{测定} - A1_{测定}$ ， $\Delta A_{空白} = A2_{空白} - A1_{空白}$ 。



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

三、6PGDH活力单位的计算

a. 用微量石英比色皿测定的计算公式如下

(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。

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

(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。

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

ϵ ：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，0.0002L； Cpr ：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，0.02mL； $V_{样总}$ ：提取液体积，1mL； T ：反应时间，3min； W ：样本质量，g。

b. 用96孔板测定的计算公式如下

(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。

$$\begin{aligned} 6PGDH酶活性(U/mg\ prot) &= [(\Delta A_{测定} - \Delta A_{空白}) \times V_{反总} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (Cpr \times V_{样}) \div T \\ &= 893 \times (\Delta A_{测定} - \Delta A_{空白}) \div Cpr \end{aligned}$$

(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。

$$\begin{aligned} 6PGDH酶活性(U/g质量) &= [(\Delta A_{测定} - \Delta A_{空白}) \times V_{反总} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (V_{样} \div V_{样总} \times W) \div T \\ &= 893 \times (\Delta A_{测定} - \Delta A_{空白}) \div W \end{aligned}$$

ϵ ：NADPH摩尔消光系数， $6.22 \times 10^3 L/mol/cm$ ； d ：96孔板光径，0.6cm； $V_{反总}$ ：反应体系总体积，0.0002L； Cpr ：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，0.02mL； $V_{样总}$ ：提取液体积，1mL； T ：反应时间，3min； W ：样本质量，g。

注意事项：

1. 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。
2. 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；
3. 若样本初始（0s）读值大于0.5且 ΔA 测定小于0.1，可尝试将样本进行稀释后测定。
4. 使用96孔板测定时，可根据样本数量将试剂一（预热后）、二、三预混为工作液，因是根据反应速率计算酶活，为保证每个样本的反应时间尽量一致不推荐同时测过多样本。



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

QQ：807961520

邮箱：saintbio@126.com

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