

葡萄糖-6-磷酸酶（G6P）活性检测试剂盒（紫外分光光度法）

注意：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：BA1250

产品规格：50管/24样

产品简介：

葡萄糖-6-磷酸酶（glucose 6 phosphatase, G6Pase, EC 3.1.3.9）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。

产品内容：

- 提取液：液体60mL×1 瓶，4℃保存；
- 试剂一：液体12 mL×1 瓶，4℃保存；
- 试剂二：粉剂×2瓶，4℃保存；
- 试剂三：粉剂×1瓶，4℃保存；临用前用8mL蒸馏水溶解备用。
- 试剂四：试剂×1瓶，4℃保存；临用前用8mL蒸馏水溶解备用。
- 试剂五：液体 8mL×1瓶，4℃保存；
- 标准品：液体 1mL×1支。10μmol/mL磷标准液。

需自备的仪器和用品：

紫外分光光度计、低温台式离心机、水浴锅、1mL玻璃比色皿、可调式移液枪、研钵/匀浆器、EP管、冰和蒸馏水。

操作步骤：

一、粗酶液提取：

- 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），超声波破碎细菌或细胞（冰浴，功率20%或200W，超声3s，间隔10s，重复30次）；8000g 4℃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），进行冰浴匀浆。8000g 4℃离心 10min，取上清，置冰上待测。
- 3、血清（浆）样品：直接检测。

二、测定步骤：

- 1、分光光度计预热30min以上，调节波长至660nm，蒸馏水调零。
- 2、将10μmol/mL标准液用蒸馏水稀释16倍至0.625μmol/mL的标准溶液备用。
- 3、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℃保存，禁止反复冻融。
- 4、定磷试剂的配制：按H₂O:试剂三:试剂四:试剂五=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。



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

5、操作表：在1.5ml EP管中进行下列操作：

	测定管	对照管	标准管	空白管
样品 (μL)	40	40		
工作液 (μL)	160			
充分混匀, 37℃ (哺乳动物) 或者25℃ (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)		160		
10000rpm常温离心10min后取上清。				
上清液 (μL)	100	100		
标准溶液 (μL)			100	
定磷试剂 (μL)	500	500	500	500
蒸馏水 (μL)	400	400	400	500
充分混匀, 40℃反应10min测定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ΔA=A测定管-A对照管, ΔA标准=A标准管-A空白管。				

三、G6P活性计算:

1、血清(浆) G6P活力计算

单位定义：每毫升血清(浆) 每分钟生成1nmol无机磷定义为一个酶活力单位。

$$\begin{aligned} \text{G6P (U/mL)} &= \Delta A \div (\Delta A \text{标准} \div C \text{标准}) \times 1000 \times V \text{酶促} \div V \text{样品} \div T \\ &= 312.5 \times \Delta A \div \Delta A \text{标准} \end{aligned}$$

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。

$$\begin{aligned} \text{G6P (U/mg prot)} &= \Delta A \div (\Delta A \text{标准} \div C \text{标准}) \times 1000 \times V \text{酶促} \div (Cpr \times V \text{样品}) \div T \\ &= 312.5 \times \Delta A \div \Delta A \text{标准} \div Cpr \end{aligned}$$

(2) 按样本鲜重计算

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。

$$\begin{aligned} \text{G6P (U/g 鲜重)} &= \Delta A \div (\Delta A \text{标准} \div C \text{标准}) \times 1000 \times V \text{酶促} \div (W \div V \text{提取} \times V \text{样品}) \div T \\ &= 312.5 \times \Delta A \div \Delta A \text{标准} \div W \end{aligned}$$

(3) 按细菌或细胞密度计算:

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。

$$\begin{aligned} \text{G6P (U/10}^4 \text{ cell)} &= \Delta A \div (\Delta A \text{标准} \div C \text{标准}) \times 1000 \times V \text{酶促} \div (500 \div V \text{提取} \times V \text{样品}) \div T \\ &= 0.625 \times \Delta A \div \Delta A \text{标准} \end{aligned}$$

C标准：标准溶液浓度, 0.625μmol/mL; V酶促：酶促反应总体积, 0.2mL; V样：加入样本体积, 0.04 mL; 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, 1μmol=1000nmol。

注意事项:

- 1、建议将样品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、标准曲线线性范围为0.02-1.25μmol/mL。
- 4、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。



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