

6-磷酸葡萄糖(G6P)含量试剂盒(酶法) (可见分光光度法)

产品货号: BA2550

产品规格: 48样

产品简介:

葡萄糖-6-磷酸 (G6P) 是在碳六上磷酸化的葡萄糖。大多数进入细胞的葡萄糖被磷酸化为G6P, 除了参与糖酵解和磷酸戊糖代谢途径, 葡萄糖 6-磷酸还可以转化为糖原或淀粉。

本试剂盒提供一种简单, 灵敏, 快速的测定方法: 葡萄糖-6-磷酸 (G6P) 被特异的酶作用, 过程中产生的NADH与一种灵敏显色探针结合, 在450nm处有最大吸收波长。其生成的有色物质颜色强度与样品中的G6P浓度成比例。

试剂盒组分与配制:

试剂名称	规格	保存要求	备注
提取液	液体60mL×1瓶	2-8°C	
试剂一	粉体mg×1支	2-8°C	使用前甩几下或离心使试剂落入底部, 再加2mL蒸馏水溶解备用。
试剂二	液体1.5mL×1瓶	2-8°C	
试剂三	粉体mg×1支	-20°C	使用前甩几下或离心使试剂落入底部, 再加2mL蒸馏水溶解备用。
试剂四	液体30mL×1瓶	2-8°C	
标准管	液体1mL×1支	2-8°C	若重新做标曲, 则用到该试剂。

所需仪器和用品:

可见分光光度计、1mL玻璃比色皿 (光径1cm)、台式离心机、可调式移液器、研钵、冰和蒸馏水。

葡萄糖-6-磷酸 (G6P) 含量测定:

1. 样本制备

① 组织样本:

建议称取约0.1g组织, 加入1mL提取液, 进行冰浴匀浆。12000rpm, 4°C离心10min, 取上清, 置冰上待测。

【注】: 若增加样本量, 可以按照组织质量 (g): 提取液体积(mL)为 1: 5~10 的比例提取。

② 细菌/细胞样本:

先收集细菌或细胞到离心管内, 离心后弃上清; 取约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200W, 超声3s, 间隔10s, 重复30次); 12000rpm 4°C离心10min, 取上清, 置冰上待测。

【注】: 若增加样本量, 可按照细菌/细胞数量 (10^4): 提取液 (mL) 为500~1000: 1的比例进行提取。

③ 液体样本: 直接检测。

2. 上机检测:

① 可见分光光度计预热30min以上, 调节波长至450nm, 蒸馏水调零。

② 试剂解冻至室温 (25°C);

③ 在EP管或1mL玻璃比色皿 (光径1cm) 中按照下表依次加入试剂:

试剂名称 (μ L)	测定管	空白对照 (仅做一次)
样本	70	0
试剂一	35	35



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

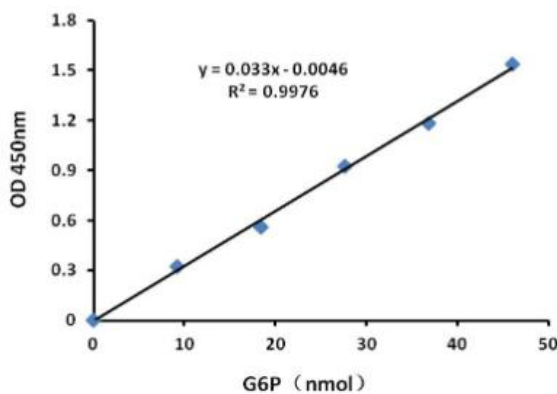
http://www.saint-bio.com

试剂二	30	30
试剂三	35	35
试剂四	530	600
混匀，于室温（25℃）条件下反应20min，于450nm处读取吸光值A， $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}$ 。		

- 【注】** 1.若样本自身有很强的背景值（如较高含量还原性物质：NAD(P)H或VC等），可以加设一个样本自身对照：即试剂三用蒸馏水替代，其他试剂保持不变，则 $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ 。
2. 若 ΔA 的差值在零附近徘徊，可增加样本量V1（如增至100 μL ，则试剂四相应减少，保持总体积不变），或增加样本取样质量W，则改变后的V1和W需代入公式重新计算。

结果计算：

1. 标准曲线方程： $y = 0.033x - 0.0046$ ；x 是标准品浓度：nmol，y是 ΔA 。



2. 按样本重量计算：
 $\text{G6P含量}(\mu\text{g/g 鲜重}) = [(\Delta A + 0.0046) \div 0.033 \times \text{Mr}] \div (W \times V1 \div V) \times 10^{-3} = 112.6 \times (\Delta A + 0.0046) \div W$
3. 按细胞数量计算：
 $\text{G6P含量}(\mu\text{g}/10^4 \text{ cell}) = [(\Delta A + 0.0046) \div 0.033 \times \text{Mr}] \div (500 \times V1 \div V) \times 10^{-3} = 0.23 \times (\Delta A + 0.0046) \times D$
4. 按照液体体积计算：
 $\text{G6P含量}(\mu\text{g}/\text{mL}) = [(\Delta A + 0.0046) \div 0.0076 \times V1] \div V1 \times 10^{-3} = 112.6 \times (\Delta A + 0.0046)$
 V---加入提取液体积，1mL； V1---加入样本体积，0.07mL；
 Mr---葡萄糖-6-磷酸（G6P）分子量；260.1； W---样本质量，g。

附：标准曲线制作过程：

1. 制备标准品母液（1 $\mu\text{mol}/\text{mL}$ ）。
2. 把母液用蒸馏水稀释成六个浓度梯度的标准品：0, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5. $\mu\text{mol}/\text{mL}$ 。也可根据实际样本来调整标准品浓度。
3. 依据测定管的加样表操作，根据结果即可制作标准曲线。



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