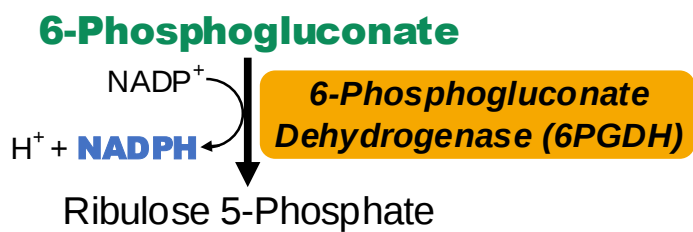




6-磷酸葡萄糖酸脱氢酶 (6PGDH) 活性检测试剂盒

6-Phosphogluconate Dehydrogenase (6PGDH) Activity Assay Kit



北京盒子生工科技有限公司
Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.



6-磷酸葡萄糖酸脱氢酶（6PGDH）活性检测试剂盒

6-Phosphogluconate Dehydrogenase (6PGDH) Activity Assay Kit

一、产品描述

6-磷酸葡萄糖酸脱氢酶(6PGDH)作为磷酸戊糖途径的关键酶,与 6-磷酸葡萄糖脱氢酶(G6PDH)依次催化 NADPH 合成,控制着该途径碳流和还原力 NADPH 的生成,对维持细胞内 NADPH 和氧化还原反应的平衡起着重要作用,并与逆境生理、生长速率和细胞活力等密切相关。

6-磷酸葡萄糖酸脱氢酶可催化 6-磷酸葡萄糖酸氧化脱羧生成 5-磷酸核酮糖,同时将 NADP 还原为 NADPH, NADPH 在 340 nm 处具有特征吸收峰,通过吸光值的增加速率即可表征 6-磷酸葡萄糖酸脱氢酶的活性。

二、产品内容

名称		试剂规格	储存条件	使用方法及注意事项
提取液		液体 120 mL×1 瓶	4°C保存	-
基质液	组分 A	粉剂×2 支	-20°C保存	使用前将 1 支组分 A 和 1 支组分 B 加入 1 瓶组分 C 中充分溶解 (分装后-20°C可保存 2 周,避免反复冻融)
	组分 B	粉剂×2 支	-20°C保存	
	组分 C	液体 12 mL×2 瓶	4°C保存	

三、产品使用说明

测定过程中所需要的仪器和试剂:紫外分光光度计/酶标仪、微量石英比色皿(光径 10 mm)/96 孔 UV 板、研钵/匀浆器、可调式移液器/多道移液器、台式离心机、恒温水浴/培养箱和蒸馏水。

1.粗酶液的制备(可根据预实验结果适当调整样本量及比例)

①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 0.1 g 组织,加入 1 mL 提取液)处理样品,冰浴匀浆,4°C 8000 g 离心 10 min,取上清置于冰上待测。

②细菌或细胞:离心收集细菌或细胞至离心管内,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 1 mL 提取液)处理样品,冰浴超声破碎(功率 20%或 200 W,超声 3 s,间隔 10 s,重复 30 次),4°C 8000 g 离心 10 min,取上清置于冰上待测。

③血清(浆)、培养液等液体样本:直接检测或适当稀释后再进行检测。

2.测定步骤

- ①紫外分光光度计或酶标仪预热 30 min 以上，调节波长至 340 nm，蒸馏水调零。
- ②试验前将**基质液** 37°C 预热 20 min。
- ③在 96 孔 UV 板或微量石英比色皿中依次加入下列试剂：

试剂	测定组 (μL)	空白组 (μL)
粗酶液	10	-
蒸馏水	-	10
基质液	190	190

吸光值测定：①充分混匀并立即开始计时，测定 10 s（总时间）时 340 nm 处吸光值，记为 A1 测定和 A1 空白；②37°C 准确反应 180 s，测定 190 s（总时间）时 340 nm 处吸光值，记为 A2 测定和 A2 空白；③计算 $\Delta A_{\text{测定}} = A2_{\text{测定}} - A1_{\text{测定}}$ ， $\Delta A_{\text{空白}} = A2_{\text{空白}} - A1_{\text{空白}}$ ， $\Delta A = \Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}$ 。注：空白组只需测定 1-2 次。

3. 6-磷酸葡萄糖酸脱氢酶（6PGDH）活性计算

3.1 使用 96 孔 UV 板测定的计算公式

①按组织蛋白浓度计算

单位定义：每 mg 组织蛋白每分钟生成 1 nmol NADPH 定义为一个酶活力单位。

$$6\text{PGDH (U/mg prot)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times 10^9}{\epsilon \times d_1 \times C_{\text{pr}} \times V_{\text{样}} \times T} = \frac{2143.62 \times \Delta A}{C_{\text{pr}}}$$

②按组织质量计算

单位定义：每 g 组织每分钟生成 1 nmol NADPH 定义为一个酶活力单位。

$$6\text{PGDH (U/g)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{提}} \times 10^9}{\epsilon \times d_1 \times W \times V_{\text{样}} \times T} = \frac{2143.62 \times \Delta A}{W}$$

③按细菌或细胞数量计算

单位定义：每 10^4 个细菌或细胞每分钟生成 1 nmol NADPH 定义为一个酶活力单位。

$$6\text{PGDH (U/10}^4 \text{ cell)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{提}} \times 10^9}{\epsilon \times d_1 \times \text{细菌或细胞数量} \times V_{\text{样}} \times T} = \frac{2143.62 \times \Delta A}{\text{细菌或细胞数量}}$$

④按液体样本体积计算

单位定义：每 mL 液体样本每分钟生成 1 nmol NADPH 定义为一个酶活力单位。

$$6\text{PGDH (U/mL)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times 10^9}{\epsilon \times d_1 \times V_{\text{样}} \times T} = 2143.62 \times \Delta A$$

3.2 使用微量石英比色皿测定的计算公式

①按组织蛋白浓度计算

单位定义：每 mg 组织蛋白每分钟生成 1 nmol NADPH 定义为一个酶活力单位。

$$6\text{PGDH (U/mg prot)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times 10^9}{\epsilon \times d_2 \times \text{Cpr} \times V_{\text{样}} \times T} = \frac{1071.81 \times \Delta A}{\text{Cpr}}$$

②按组织质量计算

单位定义：每 g 组织每分钟生成 1 nmol NADPH 定义为一个酶活力单位。

$$6\text{PGDH (U/g)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{提}} \times 10^9}{\epsilon \times d_2 \times W \times V_{\text{样}} \times T} = \frac{1071.81 \times \Delta A}{W}$$

③按细菌或细胞数量计算

单位定义：每 10^4 个细菌或细胞每分钟生成 1 nmol NADPH 定义为一个酶活力单位。

$$6\text{PGDH (U/10}^4 \text{ cell)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{提}} \times 10^9}{\epsilon \times d_2 \times \text{细菌或细胞数量} \times V_{\text{样}} \times T} = \frac{1071.81 \times \Delta A}{\text{细菌或细胞数量}}$$

④按液体样本体积计算

单位定义：每 mL 液体样本每分钟生成 1 nmol NADPH 定义为一个酶活力单位。

$$6\text{PGDH (U/mL)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times 10^9}{\epsilon \times d_2 \times V_{\text{样}} \times T} = 1071.81 \times \Delta A$$

注释： V 样：反应体系中加入粗酶液的体积， $10 \mu\text{L}=0.01 \text{ mL}$ ；V 提：粗酶液总体积，1 mL；V 反总：反应体系总体积， $0.2 \text{ mL}=2 \times 10^{-4} \text{ L}$ ； ϵ ：NADPH 摩尔消光系数， $6.22 \times 10^3 \text{ L/mol/cm}$ ； d_1 ：96 孔 UV 板光径，0.5 cm； d_2 ：微量石英比色皿光径，1 cm；Cpr：样本蛋白浓度，mg/mL；W：样本质量，g；细菌或细胞数量：以万计；T：反应时间， $180 \text{ s}=3 \text{ min}$ ； 10^9 ：单位换算系数， $1 \text{ mol}=10^9 \text{ nmol}$ 。

四、注意事项

①测定过程中粗酶液应保持冰上放置，以免变性和失活；

②若 ΔA 大于 0.5 (96 孔 UV 板大于 0.3)，建议将粗酶液使用**提取液**适当稀释；若 ΔA 小于 0.02，建议适当增加样本量或延长反应时间后再进行测定，计算时相应修改；

③准确在相应时间点完成吸光值测定，以保证实验结果的准确性；若使用 96 孔 UV 板测定时，应使用多道移液器且分批进行测定，以确保组间反应时间一致；

④为保证结果准确且避免试剂损失，测定前请仔细阅读说明书（以实际收到说明书内容为准），确认试剂储存和准备是否充分，操作步骤是否清楚，且务必取 2-3 个预期差异较大的样本进行预测定，过程中问题请您及时与工作人员联系。

For Research Use Only. Not for Use in Diagnostic Procedures.

