



葡萄糖-6-磷酸酶活性检测试剂盒

G6P Assay Kit

微量法

产品编号: AK480M

产品规格: 100T/96S

产品组成及保存条件:

编号	规格	储存条件
ES480	100mL×1 瓶	4℃保存;
AK480-A	19 mL×1 瓶	4℃保存;
AK480-B	粉剂×1 支	-20℃保存;
AK480-C	粉剂×1 支	-20℃保存;
AK480-D	试剂×1 支	-20℃保存;

※ 正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定。

简介:

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

原理: G6P 催化葡萄糖-6-磷酸生成葡萄糖, 变旋酶和葡萄糖脱氢酶进一步依次催化 NAD⁺还原生成 NADH, 在 340nm 下测定 NADH 生成速率, 即可反映 G6P 活性。

自备用品:

紫外分光光度计/酶标仪、台式离心机、可调式移液器、微量石英比色皿/96 孔板 (UV 板) 、研钵、冰和蒸馏水。

样本的前处理:

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 (10⁴ 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 ES480), 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 ES480), 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。

测定步骤:

1. 分光光度计/酶标仪预热 30min 以上, 调节波长至 340nm, 蒸馏水调零。
2. 工作液的配制: 临用前将 AK480-B, AK480-C 和 AK480-D 转移到 AK480-A 中混合溶解待用; 用不完的试剂分装后-20℃保存, 禁止反复冻融。
3. 将工作液置于 37℃(哺乳动物)或 25℃(其它物种)预热 5 分钟。
4. 测定操作表 (在微量石英比色皿或 96 孔板中加入下列试剂) :

试剂名称	测定管 (ul)
样本	10
工作液	190
立即混匀, 记录 340nm 处初始吸光值 A1 和 2min 后的吸光值 A2, 计算 $\Delta A = A2 - A1$ 。	

注意: 在该试剂盒中, 若 ΔA 大于 0.3, 需将样本用提取液稀释适当倍数后测定, 使 ΔA 小于 0.3 可提高检测灵敏度。计算公式中乘以相应稀释倍数。

G6P 活性计算:

a. 用微量石英比色皿测定的计算公式如下

1. 血清（浆）G6P 活力计算

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

$$G6P \text{ (U/mL)} = [\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div V_{\text{样}} \div T = 1608 \times \Delta A$$

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 NADH 定义为一个酶活力单位。

$$G6P \text{ (U/mg prot)} = [\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (V_{\text{样}} \times C_{\text{pr}}) \div T = 1608 \times \Delta A \div C_{\text{pr}}$$

（2）按样本鲜重计算

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

$$G6P \text{ (U/g 鲜重)} = [\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{总}}) \div T = 1608 \times \Delta A \div W$$

（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 1 nmol NADH 定义为一个酶活力单位。

$$G6P \text{ (U/10}^4 \text{ cell)} = [\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (500 \times V_{\text{样}} \div V_{\text{总}}) \div T = 3.215 \times \Delta A$$

注：V 反总：反应体系总体积， 2×10^{-4} L； ϵ ：NADH 摩尔消光系数， 6.22×10^3 L / mol / cm；d：比色皿光径，1cm；

V 样：加入样本体积，0.01 mL；V 样总：加入提取液体积，1 mL；T：反应时间，2 min；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。

※ 蛋白定量检测建议使用本公司：BCA Protein Assay Kit ([C05-02001](#))

b. 用 96 孔板测定的计算公式如下

1. 血清（浆）G6P 活力计算

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

$$G6P \text{ (U/mL)} = [\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div V_{\text{样}} \div T = 3216 \times \Delta A$$

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 NADH 定义为一个酶活力单位。

$$G6P \text{ (U/mg prot)} = [\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (V_{\text{样}} \times C_{\text{pr}}) \div T = 3216 \times \Delta A \div C_{\text{pr}}$$

（2）按样本鲜重计算

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

$$G6P \text{ (U/g 鲜重)} = [\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{总}}) \div T = 3216 \times \Delta A \div W$$

（3）按细菌或细胞密度计算：

单位定义：每 1 万个细胞或细胞每分钟生成 1 nmol NADH 定义为一个酶活力单位。

$$G6P \text{ (U/10}^4 \text{ cell)} = [\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (500 \times V_{\text{样}} \div V_{\text{总}}) \div T = 6.43 \times \Delta A$$

注：V 反总：反应体系总体积， 2×10^{-4} L； ϵ ：NADH 摩尔消光系数， 6.22×10^3 L / mol / cm；d：96 孔板光径，0.5cm；

V 样：加入样本体积，0.01 mL；V 样总：加入提取液体积，1 mL；T：反应时间，2 min；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。

※ 蛋白定量检测建议使用本公司：BCA Protein Assay Kit ([C05-02001](#))