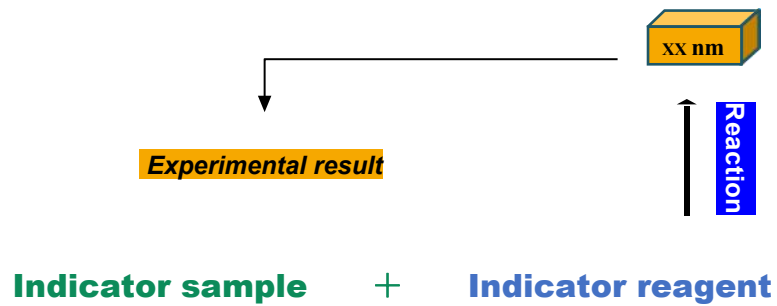


上海茁彩生物科技有限公司  
Shanghai zcibio technology Co., Ltd.



生化检测原理示意图

## 葡萄糖-6-磷酸酶 (G6P) 试剂盒说明书

### 紫外分光光度法

**注意：正式测定之前选择2-3个预期差异大的样本做预测定。**

产品内容：

种类	试剂规格	储存条件	使用方法及注意事项
提取液	60mL×1 瓶	4℃保存	-
试剂一	液体47.5 mL×1 瓶	4℃保存	-
试剂二	粉剂×1 支	-20℃保存	-
试剂三	粉剂×1 支	-20℃保存	-
试剂四	液体×1 支	-20℃保存	-

产品说明：

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。

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<sup>+</sup>还原生成NADH，在340nm下测定NADH生成速率，即可反映G6P 活性。

需自备的仪器和用品：

紫外分光光度计、台式离心机、可调式移液器、1 mL 石英比色皿、研钵、冰和蒸馏水。

操作步骤：

#### 一、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 (10<sup>4</sup> 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340nm, 蒸馏水调零。

工作液的配制: 临用前将试剂二、试剂三和试剂四转移到试剂一中混合待用; 用不完的试剂4°C保存一周;

2、将工作液置于37°C(哺乳动物)或25°C(其它物种)预热5分钟。

3、在1mL 石英比色皿中加入50 μL 样本和950 μL 工作液, 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 $\Delta A$  大于0.3, 需将样本用提取液稀释适当倍数后测定, 使 $\Delta A$  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:

#### 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。

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

#### 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。

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

##### (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。

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

##### (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。

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

V 反总: 反应体系总体积,  $1 \times 10^{-3}$  L;  $\epsilon$ : NADH 摩尔消光系数,  $6.22 \times 10^3$  L / mol /cm; d: 比色皿光径, 1cm; V 样: 加入样本体积, 0.05 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。