

葡萄糖-6-磷酸脱氢酶(G6PD)检测试剂盒(简易比色法)

产品货号: BA1688

产品规格: 100T

产品简介:

葡糖-6-磷酸脱氢酶(glucose 6-phosphate dehydrogenase, G-6-PD 或 G6PD)是糖酵解途径、柠檬酸循环以外的另一个葡萄糖分解途径的磷酸葡萄糖酸途径(磷酸戊糖途径)中的第一个酶(EC1.1.1.49)。

葡萄糖-6-磷酸脱氢酶(G6PD)检测试剂盒(简易比色法)其检测原理是红细胞 G-6-PD 催化葡萄糖-6-磷酸葡萄糖--内脂,后者很快氧化成 6-磷酸葡萄糖酸(6-PGA),同时 NAPD 被还原成 NADPH,其反应公式如下:

$G-6-P+NAPD^+ \rightarrow 6-PGA+L-NADPH$

在上述偶联反应中,NADPH 生成速率与样本中酶活性呈正比,通过分光光度计或自动分析仪在 340nm 处检测吸光度升高速率($\Delta A/\min$),升高速率($\Delta A/\min$)与 G-6-PD 活性呈正比,比色杯光径 1.0cm,直接计算酶的活性单位。100T 该试剂盒试剂可以检测 50 次样本,该试剂盒仅用于科研领域,不宜用于临床诊断或其他用途。

产品组成:

试剂名称	规格	保存条件
试剂(A): 样本稀释液	100ml	-20℃,避光
试剂(B): G6PD Assay buffer	100ml	4℃
试剂(C): NADP	18mg	-20℃
试剂(D): G-6-P	1支	-20℃
试剂(E): G-6-P稀释液	10ml	RT

需自备的仪器和用品:

生理盐水、水浴锅、比色杯、分光光度计。

操作步骤(仅供参考):

- 1. 准备溶血液:取新鲜抗凝血,离心取上清及白细胞层,用 4℃预冷的生理盐水洗涤 2 次,每次取上清时,务必去除剩余的白细胞层,再加预冷的生理盐水配成含红细胞压积为 30%的红细胞悬液,4℃保存备用。临用前,以样本稀释液稀释 25 倍,即为溶血液。4℃保存 10h,-20℃保存 48h。
- 2. 配制 NADP 储存液: 取 18mg NADP 溶解于 1ml G6PD assay buffer, 充分混匀, 配制成 NADP 储存液(18mg/ml), -20℃保存备用。
- 3. 配制检测工作液: 取 NADP 储存液和 G6PD assay buffer, 按 NADP 储存液(18mg/ml): G6PD assay buffer=1: 99 的比例混合,即为检测工作液。-20℃保存,一个月有效。
- 4. 配制 G-6-P 工作液: 取 G-6-P 1 支溶解于 G-6-P 稀释液 10ml, 混匀, 即为 G-6-P 工作液, 分装成小份后, -20℃ 保存备用。
- 5. 分光光度计检测:按照下表设置空白管、测定管,溶液应按照顺序依次加入,并注意避免产生气泡。如果样品中的酶活性过高,可以减少样品用量或适当稀释后再进行测定。

加入物	空白管	测定管
检测工作液(μl)(37℃预温)	880	880
G6PD assay buffer (μl)	20	-
溶血液(μl)	_	20





混匀,37℃孵 10min。				
G-6-P 工作液(μl)	100	100		
混匀, 37℃孵育 60s, 在 340nm 处 1-3min 各管吸光度变化, 计算各管ΔA/min。				

6. 生化分析仪检测:按照下表设主要参数。如果样品中的酶活性过高,可以减少祥品用量或适当稀释后再进行测定。

波长	340nm
反应温度	37℃
孵育时间	90s
连续监测时间	60s
比色杯光径	1.0cm
系数	8040
待测样品	6μl
检测工作液	264µl
G-6-P工作液	33µl

计算:

分光光度计计算公式:G6PD(U/L)=ΔA/min×(10⁶/6220)×(1000/20)=ΔA/min×8040

式中: 6220=NADH的吸光度

1000=反应液的总体积(μl)

20=待测样品体积(ul)

生化分析仪计算公式:G6PD(U/L)=ΔA/min×(10⁶/6220)×(303/6)=ΔA/min×8040

式中: ΔA/min=测定的340nm吸光度的升高速率

6220=NADH的吸光度

303=反应液的总体积(μl)

6=待测样品体积(μl)

参考范围:

成年健康人红细胞G6PD: 8-18U/g Hb

注意事项:

- 1. 血清中G6PD活性在室温可以保存2天,4℃保存1周,-20℃保存1个月。
- 2. 严重黄痘、脂血或溶血的血清,可能会引起测定管吸光度增高。
- 3. 为了您的安全和健康,请穿实验服并戴一次性手套操作。

有效期:6个月有效。

