

## 葡萄糖-6-磷酸酶(G6P)检测试剂盒（可见分光光度法）

产品货号：BA2187

产品规格：50T/24S

### 产品简介：

葡萄糖-6-磷酸酶（glucose 6 phosphatase, G6Pase, EC 3.1.3.9）是一种水解磷酸化化合物的磷酸酶，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-磷酸生成葡萄糖和无机磷，利用钼蓝法测定无机磷含量的增加，即可反映G6P活性。

**注意：实验之前建议选择2-3个预期差异大的样本做预实验。如果样本吸光值不在测量范围内建议稀释或者增加样本量进行检测。**

### 产品组成：

试剂名称	规格	保存条件
提取液	液体40mL×1瓶	2-8℃
试剂一	液体12mL×1瓶	2-8℃
试剂二	粉剂×2瓶	2-8℃
试剂三	粉剂×1瓶	2-8℃
试剂四	粉剂×1瓶	2-8℃
试剂五	液体8mL×1瓶	2-8℃
标准品	液体1mL×1支	2-8℃

### 溶液的配制：

1. 试剂三：临用前用8mL蒸馏水溶解备用。
2. 试剂四：临用前用8mL蒸馏水溶解备用。
3. 标准品：10 $\mu$ mol/mL磷标准液。临用前用蒸馏水稀释16倍至0.625 $\mu$ mol/mL 的标准溶液备用。
4. 工作液的配制：试剂二中加入5mL试剂一充分溶解备用。可以将工作液分装后-20℃保存，禁止反复冻融。
5. 定磷试剂的配制：按H<sub>2</sub>O:试剂三:试剂四:试剂五（V:V:V:V）=2:1:1:1的比例配制，配好的定磷剂应为浅黄色。若无色则试剂失效，若是蓝色则为磷污染，定磷剂现用现配。

**注意：配试剂最好用新的烧杯、玻璃棒和玻璃移液器，也可以用一次性塑料器皿，避免磷污染。**

### 需自备的仪器和用品：

可见分光光度计、低温台式离心机、水浴锅、1mL 玻璃比色皿、可调式移液枪、研钵/匀浆器、EP 管、冰和蒸馏水。

### 操作步骤：

#### 一、样本处理（可适当调整待测样本量，具体比例可以参考文献）

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）样本：直接检测。

#### 二、测定步骤



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com

1. 可见分光光度计预热 30min 以上，调节波长至 660nm，蒸馏水调零。
2. 操作表：（在 1.5mL EP 管中加入下列试剂）

试剂名称 (μL)	测定管	对照管	标准管	空白管
样本	40	40	-	-
工作液	160	-		
充分混匀，37℃（哺乳动物）或者 25℃（其他物种）水浴反应 10min。反应后迅速放入沸水中沸水浴 10min。取出冷却至常温				
工作液	-	160	-	-
10000rpm 常温离心 10min 后取上清。				
上清液	100	100		
标准溶液	-	-	100	-
定磷试剂	500	500	500	500
蒸馏水	400	400	400	500
充分混匀，40℃ 反应 10min 测定 660nm 处吸光值，测定管、对照管、空白管、标准管测定的吸光度分别记为 A 测定管、A 对照管、A 空白管、A 标准管。计算 $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}}$ ， $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准管}} - A_{\text{空白管}}$ 。				

### 三、G6P 活性计算

#### 1. 血清（浆）G6P 活力计算

单位定义：每 mL 血清（浆）每分钟生成 1nmol 无机磷定义为一个酶活力单位。

$$G6P (U/mL) = \Delta A \div (\Delta A_{\text{标准}} \div C_{\text{标准}}) \times 1000 \times V_{\text{酶促}} \div V_{\text{样本}} \div T = 312.5 \times \Delta A \div \Delta A_{\text{标准}}$$

#### 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 无机磷定义为一个酶活力单位。

$$G6P (U/mg \text{ prot}) = \Delta A \div (\Delta A_{\text{标准}} \div C_{\text{标准}}) \times 1000 \times V_{\text{酶促}} \div (C_{\text{pr}} \times V_{\text{样本}}) \div T = 312.5 \times \Delta A \div \Delta A_{\text{标准}} \div C_{\text{pr}}$$

##### (2) 按样本质量计算：

单位定义：每 g 组织每分钟生成 1nmol 无机磷定义为一个酶活力单位。

$$G6P (U/g \text{ 质量}) = \Delta A \div (\Delta A_{\text{标准}} \div C_{\text{标准}}) \times 1000 \times V_{\text{酶促}} \div (W \div V_{\text{提取}} \times V_{\text{样本}}) \div T = 312.5 \times \Delta A \div \Delta A_{\text{标准}} \div W$$

##### (3) 按细菌或细胞数量计算：

单位定义：每 1 万个细菌或细胞每分钟生成 1nmol 无机磷定义为一个酶活力单位。

$$G6P (U/10^4 \text{ cell}) = \Delta A \div (\Delta A_{\text{标准}} \div C_{\text{标准}}) \times 1000 \times V_{\text{酶促}} \div (500 \div V_{\text{提取}} \times V_{\text{样本}}) \div T = 0.625 \times \Delta A \div \Delta A_{\text{标准}}$$

C 标准：标准溶液浓度，0.625μmol/mL；V 酶促：酶促反应总体积，0.2mL；V 样：加入样本体积，0.04mL；V 提取：加入提取液体积，1mL；T：反应时间，10min；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；1000：单位换算系数，1μmol=1000nmol。

### 注意事项：

1. 建议将样本用提取液稀释后再进行测定，并在计算公式中乘以稀释倍数。
2. 若 A 大于 1 或者显色完成后有沉淀产生，将上清液或者粗酶液用蒸馏水稀释后再进行测定。
3. 定磷试剂应现配现用，正常颜色为浅黄色，如有变色或变蓝则均为失效。



扫一扫 加微信

**郑州乐业生物科技有限公司**

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q：807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com