# 葡萄糖-6-磷酸(6PG)测试盒（可见分光光度法）

**正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定。**

**产品货号：**BA2367

**产品规格：**50管/24样

**测定意义：**

6PG (Glucose-6-phosphate，葡萄糖-6-磷酸，又称 6-磷酸葡萄糖)，是糖酵解和磷酸戊糖途径的中间产物，广泛存在于动植物体和微生物中。在糖酵解的第一步反应中，葡萄糖被己糖激酶催化生成葡萄糖-6-磷酸，然后通过磷酸葡萄糖异构酶的催化形成果糖-6-磷酸，以继续糖酵解的其它步骤；而在戊糖磷酸途径中，葡萄糖-6-磷酸是其第一个底物，该过程也是生成 NADPH 的主要途径。此外，葡萄糖-6-磷酸也能转化形成糖原或淀粉而被储存起来。

**测定原理：**

6-磷酸葡萄糖脱氢酶可催化 6PG 和 $NADP^+$生成 6 磷酸葡萄糖酸和 NADPH，NADPH 在 1-mPMS 的作用下使 WST-8 显橙黄色，在 450nm 下测定吸光值。

**需自备的仪器和用品：**

分光光度计、台式离心机、可调式移液器、1mL 玻璃比色皿、研钵、冰、蒸馏水。

**试剂的组成和配制：**

提取液：液体 60mL×1 瓶，4°C 保存；
试剂一：液体 30mL×1 瓶，4°C 保存；
试剂二：粉剂×1 瓶，-20°C 保存；
试剂三：液体 3mL×1 管，4°C 避光保存。

**6PG 提取：**

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（$10^4$ 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 1mL 提取液），超声波破碎（冰浴，功率 20%或 200W，超声 3s，间隔 10s，重复 30 次），8000g，25°C 离心 10min，取上清待测。
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，25°C 离心 10min，取上清待测。
3. 血清（浆）等液体样品：直接测定。

**测定步骤：**

1. 分光光度计预热 30min 以上，调节波长至 450nm，蒸馏水调零。
2. 试剂二的配制：临用前加入 8mL 水充分溶解待用，用不完的试剂分装后-20°C 保存；
3. 工作液的配制：临用前按照样本数量，按以下比例配制工作液：

| 试剂名称（μL） | 测定工作液 | 对照工作液 |
|---|---|---|
| 试剂一 | 500 | 500 |
| 试剂二 | 250 | |

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

| | | |
|---|---|---|
| 水 | | 250 |
| 试剂三 | 50 | 50 |

4. 样本测定

按下表在 96 孔板中加入如下试剂

| 试剂名称（μL） | 测定管 | 对照管 |
|---|---|---|
| 样本 | 250 | 250 |
| 测定工作液 | 750 | |
| 对照工作液 | | 750 |

37°C 避光孵育 30min，450nm 下测定吸光值 A 测定与 A 对照，ΔA=A 测定-A 对照。每个测定管需设一个对照管。

**6PG 含量计算：**

1. 标准条件下测定回归方程为 $y = 7.7178x - 0.0016$，$R^2 = 0.997$；x 为 6PG 含量（μmol/mL），y 为吸光值。
2. 按照血清（浆）体积计算

   6PG 含量（nmol/mL）= [(ΔA+0.0016)÷7.7178×V1]÷V1×1000=129.6×(ΔA+0.0016)
3. 按照蛋白浓度计算

   6PG 含量（nmol/mg prot）= [(ΔA+0.0016)÷7.7178×V1]÷(V1×Cpr)×1000=129.6×(ΔA+0.0016) ÷Cpr
4. 按照样品质量计算

   6PG 含量（nmol/g 鲜重）= [(ΔA+0.0016)÷7.7178×V1]÷(W ×V1÷V2）×1000=129.6×(ΔA+0.0016) ÷W
5. 按照细菌或细胞密度计算

   6PG 含量（nmol/$10^4$ cell）= [(ΔA+0.0016)÷7.7178×V1]÷（500×V1÷V2）×1000=0.259×(ΔA+0.0016)

   V1：加入反应体系中样本体积，0.25mL；V2：加入提取液体积，1mL； 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，μmol 到 nmol 的换算系数。