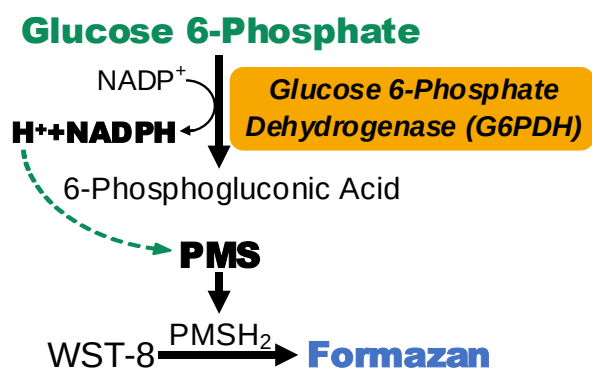




葡萄糖-6-磷酸 (G-6-P) 含量检测试剂盒
Glucose-6-Phosphate (G-6-P) Content Assay Kit



北京盒子生工科技有限公司
Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.



葡萄糖-6-磷酸 (G-6-P) 含量检测试剂盒

Glucose-6-Phosphate (G-6-P) Content Assay Kit

一、产品描述

葡萄糖-6-磷酸 (Glucose-6-Phosphate, G-6-P), 是由葡萄糖经过磷酸化之后生成的化合物, 是糖酵解和磷酸戊糖途径的重要中间产物, 通过糖酵解途径一系列的反应转化为丙酮酸, 最终产生 ATP, 从而提供细胞所需的能量, 不仅是能量产生的重要中间产物, 并参与多种生物化学过程的调控。

6-磷酸葡萄糖脱氢酶可催化葡萄糖-6-磷酸和 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, 产物在 450 nm 处具有特征吸收峰, 通过吸光值变化即可定量检测葡萄糖-6-磷酸的含量。

二、产品内容

名称	试剂规格	储存条件	使用方法及注意事项
提取液	液体 60 mL×1 瓶	4°C 保存	-
试剂一	液体 12 mL×1 瓶	4°C 保存	-
试剂二	粉剂×1 瓶	-20°C 保存	使用前加入 3 mL 蒸馏水充分溶解 (分装后 -20°C 可保存一个月, 避免反复冻融)
试剂三	液体 1.5 mL×1 支	4°C 避光保存	-

三、产品使用说明

测定过程中所需要的仪器和试剂: 可见分光光度计/酶标仪、微量玻璃比色皿 (光径 10 mm) /96 孔板、研钵/匀浆器、可调式移液器、台式离心机、恒温水浴/培养箱和蒸馏水。

1. 样品处理 (可根据预实验结果适当调整样本量及比例)

①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 0.1 g 组织, 加入 1 mL 提取液) 处理样品, 冰浴匀浆, 4°C 8000 g 离心 10 min, 取上清置于冰上待测。

②细菌或细胞: 离心收集细菌或细胞至离心管内, 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 1 mL 提取液) 处理样品, 冰浴超声破碎 (功率 20% 或 200 W, 超声 3 s, 间隔 10 s, 重复 30 次), 4°C 8000 g 离心 10 min, 取上清置于冰上待测。

③血清 (浆)、培养液等液体样本: 直接检测或适当稀释后再进行检测。

2.测定步骤

①分光光度计或酶标仪预热 30 min 以上，调节波长至 450 nm，蒸馏水调零。

②检测工作液 A 的制备（现用现配）：根据使用量按照试剂一：试剂二：试剂三=10:5:1 体积比配制，充分混匀即为检测工作液 A。

③检测工作液 B 的制备（现用现配）：根据使用量按照试剂一：蒸馏水：试剂三=10:5:1 体积比配制，充分混匀即为检测工作液 B。

④在 96 孔板或微量玻璃比色皿中依次加入下列试剂（避光条件下进行）：

试剂	测定组 (μL)	对照组 (μL)
待测样本	50	50
检测工作液 A	150	-
检测工作液 B	-	150
充分混匀，37°C避光反应 30 min		

吸光值测定：测定 450 nm 处吸光值，记为 A 测定和 A 对照；计算 $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ 。注：每个样品均需设一个对照组。

3.葡萄糖-6-磷酸（G-6-P）含量计算

3.1 使用 96 孔板测定的计算公式（ $y=3.8494x-0.0011$ ， $R^2=0.9991$ ）

①按组织蛋白浓度计算

$$\text{G-6-P (nmol/mg prot)} = \frac{(\Delta A + 0.0011) \times V_{\text{样}} \times 10^3}{3.8494 \times \text{Cpr} \times V_{\text{样}}} = \frac{259.8 \times (\Delta A + 0.0011)}{\text{Cpr}}$$

②按组织样本质量计算

$$\text{G-6-P (nmol/g)} = \frac{(\Delta A + 0.0011) \times V_{\text{样总}} \times 10^3}{3.8494 \times W} = \frac{259.8 \times (\Delta A + 0.0011)}{W}$$

③按照细菌或细胞数量计算

$$\text{G-6-P (nmol/10}^4\text{ cell)} = \frac{(\Delta A + 0.0011) \times V_{\text{样总}} \times 10^3}{3.8494 \times \text{细菌或细胞数量}} = \frac{259.8 \times (\Delta A + 0.0011)}{\text{细菌或细胞数量}}$$

④按液体样本体积计算

$$\text{G-6-P (nmol/mL)} = \frac{(\Delta A + 0.0011) \times V_{\text{样}} \times 10^3}{3.8494 \times V_{\text{样}}} = 259.8 \times (\Delta A + 0.0011)$$

3.2 使用微量玻璃比色皿测定的计算公式 ($y=7.6987x-0.0011$, $R^2=0.9991$)

①按组织蛋白浓度计算

$$\text{G-6-P (nmol/mg prot)} = \frac{(\Delta A + 0.0011) \times V_{\text{样}} \times 10^3}{7.6987 \times \text{Cpr} \times V_{\text{样}}} = \frac{129.9 \times (\Delta A + 0.0011)}{\text{Cpr}}$$

②按组织样本质量计算

$$\text{G-6-P (nmol/g)} = \frac{(\Delta A + 0.0011) \times V_{\text{样总}} \times 10^3}{7.6987 \times W} = \frac{129.9 \times (\Delta A + 0.0011)}{W}$$

③按照细菌或细胞数量计算

$$\text{G-6-P (nmol/10}^4 \text{ cell)} = \frac{(\Delta A + 0.0011) \times V_{\text{样总}} \times 10^3}{7.6987 \times \text{细菌或细胞数量}} = \frac{129.9 \times (\Delta A + 0.0011)}{\text{细菌或细胞数量}}$$

④按液体样本体积计算

$$\text{G-6-P (nmol/mL)} = \frac{(\Delta A + 0.0011) \times V_{\text{样}} \times 10^3}{7.6987 \times V_{\text{样}}} = 129.9 \times (\Delta A + 0.0011)$$

注释: V 样: 反应体系中加入待测样本的体积, 0.05 mL; V 样总: 待测样本总体积, 1 mL; W: 样本质量, g; 细菌或细胞数量: 以万计; Cpr: 样本蛋白浓度, mg/mL; 10^3 : 单位换算系数, $1 \mu\text{mol/mL} = 10^3 \text{ nmol/mL}$ 。

四、注意事项

为保证结果准确且避免试剂损失, 测定前请仔细阅读说明书 (以实际收到说明书内容为准), 确认试剂储存和准备是否充分, 操作步骤是否清楚, 且务必取 2-3 个预期差异较大的样本进行预测定, 过程中问题请您及时与工作人员联系。

For Research Use Only. Not for Use in Diagnostic Procedures.

boxbio

Manufactured and Distributed by

Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.
Liandong U Valley, Tongzhou District, Beijing, China

TEL: 400-805-8228

E-MAIL: techsupport@boxbio.cn

Copyright © 2020 Boxbio, All Rights Reserved.

