

(本试剂盒仅供体外研究使用，不用于临床诊断!)

产品货号: GBQ089

产品规格: 96T(40 samples)

检测仪器: 酶标仪(450 nm)

Elabscience®葡萄糖-6-磷酸脱氢酶(G-6-PD)

比色法测试盒

Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase (G-6-PD)

Activity Assay Kit

使用前请仔细阅读说明书。如果有任何问题，请通过以下方式联系我们：

电话: 400-999-2100

邮箱: biochemical@elabscience.cn

网址: www.elabscience.cn

具体保质期请见试剂盒外包装标签。请在保质期内使用试剂盒。

联系时请提供产品批号(见试剂盒标签)，以便我们更高效地为您服务。

用途

本试剂盒适用于检测动物组织样本及血清(浆)等液体样本内葡萄糖-6-磷酸脱氢酶的活力。

检测原理

葡萄糖-6-磷酸在 G6PDH 的作用下氧化生成 6-PG，在这一反应过程中 NADP⁺被还原为 NADPH，生成的 NADPH 在电子耦合试剂 1-mPMS 的作用下，将 WST-8 还原生成橙黄色的 formazan 在 450 nm 左右有最大吸收峰。反应体系中生成的 formazan 与样品中 G6DPH 的活性呈正比关系。

本试剂盒检测组织样本时，需测定总蛋白浓度，推荐使用本公司 BCA 试剂盒(货号 GBQ162)进行测定。

提供试剂和物品

编号	名称	规格 (Size)(96 T)	保存方式 (Storage)
试剂一 (Reagent 1)	提取液 (Extracting Solution)	50 mL × 2 瓶	-20℃ 保存 6 个月
试剂二 (Reagent 2)	底物 (Substrate)	1.5 mL × 2 支	-20℃ 保存 6 个月
试剂三 (Reagent 3)	显色剂 (Chromogenic Agent)	1.5 mL × 2 支	-20℃ 避光 保存 6 个月
试剂四 (Reagent 4)	缓冲液 (Buffer Solution)	4 mL × 1 瓶	-20℃ 保存 6 个月
试剂五 (Reagent 5)	标准品 (Standard)	粉剂 × 1 支	-20℃ 避光 保存 6 个月
	96 孔酶标板	96 孔×1 块	无要求
	96 孔覆膜	2 张	
	样本位置标记表	1 张	

说明：试剂严格按上表中的保存条件保存，不同测试盒中的试剂不能混用。
对于体积较少的试剂，使用前请先离心，以免量取不到足够量的试剂。

所需自备物品

仪器：酶标仪(450 nm)。

试剂准备

- ① 检测前，试剂一、三、四、五需平衡至室温。
- ② 5 mmol/L标准品的配制：
取1支试剂五加入0.72 mL双蒸水充分溶解，现用现配。
- ③ 500 μmol/L标准品的配制：
按5 mmol/L标准品：双蒸水= 1：9的体积比混匀，现用现配，按需配制。
- ④ 对照工作液的配制：
按试剂三：试剂四 = 1：1的体积比混匀，现用现配，按需配制。
- ⑤ 测定工作液的配制：
按试剂二：试剂三 = 1：1的体积比混匀，现用现配，按需配制。
- ⑥ 不同浓度标准品的稀释：

编号	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧
标准品浓度(μmol/L)	0	50	100	150	250	350	400	500
500 μmol/L 标准品 (μL)	0	20	40	60	100	140	160	200
试剂一 (μL)	200	180	160	140	100	60	40	0

样本准备

① 样本处理

血清(浆)、尿液等液体样本：可直接测定。

组织样本：常规匀浆处理(匀浆介质为试剂一)。匀浆后，4℃，10000 × g 离心 10 min，取上清置于冰上待测。留取部分上清用于蛋白浓度测定。

② 样本的稀释

在正式检测前，需选择2-3个预期差异大的样本稀释成不同浓度进行预实验，根据预实验的结果，结合本试剂盒的线性范围：0.01-50 U/L，请参考下表稀释(仅供参考)：

样本	稀释倍数	样本	稀释倍数
人血清	不稀释	10%大鼠脾组织	5-10
兔血清	不稀释	10%小鼠肝组织	3-5
大鼠血清	不稀释	10%大鼠肾组织	不稀释
食蟹猴血清	不稀释	10%小鼠脑组织	不稀释

注：稀释液为试剂一。

实验关键点

- ① 试剂一取用时应倒出部分，再取用，避免试剂污染。
- ② 样本和标准品加入板孔中时应触底加入。

操作步骤

- ① 标准孔：取 50 μL 不同浓度标准品，加入到对应的标准孔中；
对照孔：取 50 μL 待测样本，加入到对应的对照孔中；
测定孔：取 50 μL 待测样本，加入到对应的测定孔中；
- ② 向步骤①的标准孔和测定孔中加入 50 μL 测定工作液；
向步骤①对照孔中加入 50 μL 对照工作液；
- ③ 酶标仪上振板 5 s, 37°C 恒温箱中准确孵育 10 min 后，于波长 450 nm 处测定各孔 OD 值。

操作表

	标准孔	测定孔	对照孔
不同浓度的标准品(μL)	50	--	--
待测样本(μL)	--	50	50
测定工作液(μL)	50	50	--
对照工作液(μL)	--	--	50
酶标仪上振板 5 s, 37°C 恒温箱中准确孵育 10 min 后，于波长 450 nm 处测定各孔 OD 值， $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ 。			

本试剂盒检测组织样本时，需测定总蛋白浓度，推荐使用 BCA 法(货号：GBQ162)。

结果计算

标准品拟合曲线： $y = ax + b$

血清(浆)G6PDH 活力的计算：

定义：37°C 条件下，每升血清或血浆每分钟催化底物产生 1 μmol 的 NADPH 所需要的酶量为一个活力单位。

$$\text{G6PDH 活力 (U/L)} = (\Delta A - b) \div a \div T \times f$$

组织中 G6PDH 活力的计算：

定义：37°C 条件下，每克组织蛋白每分钟催化底物产生 1 μmol 的 NADPH 所需要的酶量为一个活力单位。

$$\text{G6PDH 活力 (U/gprot)} = (\Delta A - b) \div a \div T \times f \div C_{\text{pr}}$$

注解：

y: 标准品 OD 值-空白 OD 值(标准品浓度为 0 时的 OD 值)

x: 吸光度对应的浓度

a: 标准曲线斜率

b: 标准曲线截距

ΔA : 测定孔 OD 值-对照孔 OD 值

f: 样本加入检测体系前的稀释倍数

T: 反应时间: 10 min

C_{pr} : 样本加入检测体系时的蛋白浓度(gprot/L)

附录1 关键数据

1. 技术参数

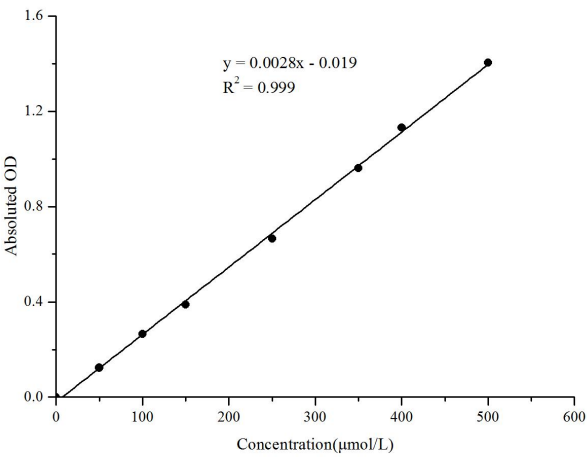
检测范围	0.01-50 U/L	平均批间差	5.8 %
灵敏度	0.01 U/L	平均批内差	2.1 %

2. 标准曲线(数据仅供参考)

① 标准品浓度测定数据

标准品浓度μmol/L	0	50	100	150	250	350	400	500
OD 值	0.062	0.184	0.319	0.447	0.724	1.022	1.173	1.463
	0.055	0.180	0.327	0.446	0.724	1.016	1.207	1.462
平均 OD 值	0.059	0.182	0.323	0.447	0.724	1.019	1.190	1.463
绝对 OD 值	0.000	0.124	0.265	0.388	0.666	0.961	1.132	1.404

② 数据作图(如下图)



附录2 实例分析

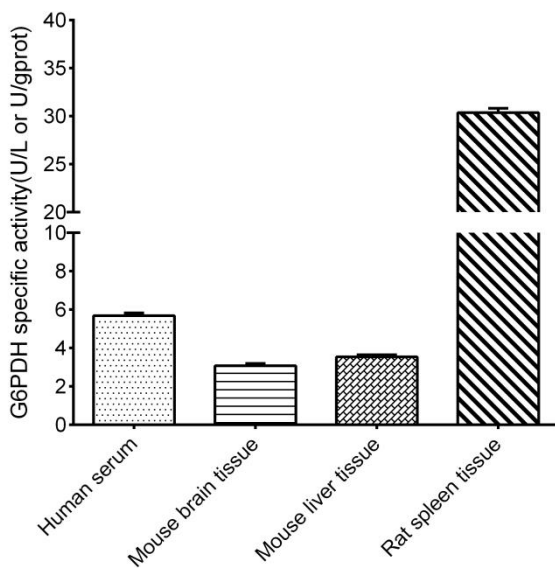
例如检测小鼠脑组织(数据仅供参考):

取50 μL 10%小鼠脑匀浆,按操作表进行检测,其结果如下。

G6PDH的标准曲线: $y = 0.0031x - 0.0149$, 对照孔平均OD值为0.180, 测定孔平均OD值为0.904, $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}} = 0.724$, 测定其蛋白浓度为7.77 gprot/L, 计算结果为:

$$\text{G6PDH 活性 (U/gprot)} = (0.724 + 0.0149) \div 0.0031 \div 10 \div 7.77 = 3.07 \text{ U/gprot}$$

按照说明书,测定人血清(加样量50 μL)、小鼠脑组织(10%匀浆蛋白浓度为7.77 gprot/L,加样量50 μL)、小鼠肝组织(10%匀浆蛋白浓度为11.52 gprot/L,加样量50 μL)和大鼠脾组织匀浆(10%匀浆蛋白浓度为6.16 gprot/L,加样量50 μL)中的G6PDH活性(如下图):



附录3 问题答疑

问题	可能原因	建议解决方案
测值不稳定, 复孔差异大	加样时间过长	尽可能的缩短加样时间
样本测不出值	样本稀释倍数太大	选择合适稀释倍数, 重新检测
	样本保存时间过长或者保存不当	取用新鲜样本, 重新检测
样本测量结果 >50 U/L	样本浓度太高	选择合适稀释倍数, 重新检测

声明

1. 试剂盒仅供研究使用, 如将其用于临床诊断或任何其他用途, 我公司将不对因此产生的问题负责, 亦不承担任何法律责任。
2. 实验前请仔细阅读说明书并调整好仪器, 严格按照说明书进行实验。
3. 实验中请穿着实验服并戴乳胶手套做好防护工作。
4. 试剂盒检测范围不等于样本中待测物的浓度范围。如果样品中待测物浓度过高或过低, 请对样本做适当的稀释或浓缩。
5. 若所检样本不在说明书所列样本类型之中, 建议先做预实验验证其检测有效性。
6. 最终的实验结果与试剂的有效性、实验者的相关操作以及实验环境等因素密切相关。本公司只对试剂盒本身负责, 不对因使用试剂盒所造成的样本消耗负责, 使用前请充分考虑样本可能的使用量, 预留充足的样本。

附录4 客户发表文献

1. Mu X, Xiang Z, Xu Y, et al. Glucose metabolism controls human $\gamma\delta$ T-cell-mediated tumor immunosurveillance in diabetes[J]. Cellular & Molecular Immunology. IF:22.096
2. Tseng S.Ja. An acid degradable, lactate oxidizing nanoparticle formulation for non-small cell lung cancer virotherapy[J]. Nano Today. IF:18.962
3. Zhang H, Zheng Q, Guo T, et al. Metabolic reprogramming in astrocytes results in neuronal dysfunction in intellectual disability. Mol Psychiatry. 2022. IF:15.992
4. Salman T M, Iyanda M A, Alli-Oluwafuyi A M, et al. Telfairia occidentalis stimulates hepatic glycolysis and pyruvate production via insulin-dependent and insulin-independent mechanisms[J]. Metabolism Open, 2021, 10(1-10):100092. IF:8.694
5. Li Q, Peng J, Luo Y, et al. Far infrared light irradiation enhances A β clearance via increased exocytotic microglial ATP and ameliorates cognitive deficit in Alzheimer's disease-like mice. J Neuroinflammation. 2022; 19 (1):145. IF:7.573
6. Zeng X Peng, Wang L J, Guo L H, et al. Dasatinib ameliorates chronic pancreatitis induced by caerulein via anti- fibrotic and anti-inflammatory mechanism[J]. Pharmacological Research, 2019, 147, 104357. IF:5.574
7. Daily Dose of Bovine Lactoferrin Prevents Ethanol-Induced Liver Injury and Death in Male Mice by Regulating Hepatic Alcohol Metabolism and Modulating Gut Microbiota[J]. Molecular Nutrition & Food Research. IF:5.426
8. Wang Y, Xie W, Feng Y, et al. Epithelial-derived exosomes promote M2 macrophage polarization via Notch2/SOCS1 during mechanical ventilation. Int J Mol Med. 2022; 50 (1). IF:5.314
9. Yu C, Wang D, Tong Y, et al. Trans -Anethole Alleviates Subclinical Necro-Haemorrhagic Enteritis-Induced Intestinal Barrier Dysfunction and Intestinal Inflammation in Broilers. Front Microbiol. 2022; 13:831882. IF:5.259
10. Xu Y , Zhang Y , Xu Y , et al. Activation of CD137 signaling promotes macrophage apoptosis dependent on p38 MAPK pathway-mediated mitochondrial fission[J]. The International Journal of Biochemistry & Cell Biology, 2021 Jul; 136:106003. IF:5.085
11. Naseh A, Shirin B, Maryam M,et al.Attenuation of chronic arsenic neurotoxicity via melatonin in male offspring of maternal rats exposed to arsenic during conception: Involvement of oxidative DNA damage and inflammatory signaling cascades[J]. Life Sciences 266 (2021) 118876. IF:5.037

12. Zhong J, Sun P, Xu N, et al. Canagliflozin inhibits p-gp function and early autophagy and improves the sensitivity to the antitumor effect of doxorubicin[J]. *Biochemical Pharmacology*, 2020, 175: 113856. IF:4.96
13. Wang L J, He L, Hao L, et al. Isoliquiritigenin ameliorates caerulein - induced chronic pancreatitis by inhibiting the activation of PSCs and pancreatic infiltration of macrophages[J]. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, 2020. IF:4.486
14. Laurian R, Ravent J, Dementhon K, et al. Candida albicans Hexokinase 2 Challenges the Saccharomyces cerevisiae Moonlight Protein Model[J]. *Microorganisms*, 2021, 9(4):848. IF:4.128
15. Liu J, Duan P, Xu C Y, et al. CircRNA circ-ITCH improves renal inflammation and fibrosis in streptozotocin-induced diabetic mice by regulating the miR-33a-5p/SIRT6 axis[J]. *Inflammation Research*, 2021. IF:4.114
16. Yu H, Zhang L, Chen P, et al. Dietary bile acids enhance growth, and alleviate hepatic fibrosis induced by a high starch diet via AKT/FOXO1 and cAMP/AMPK/SREBP1 pathway in *Micropterus salmoides*[J]. *Frontiers in Physiology*, 2019, 10. IF:3.367
17. Sohini Sen, Shaunak Ghosh, Sayantan De, et al. Immunomodulatory and antimicrobial non-mulberry *Antheraea mylitta* silk fibroin accelerates in vitro fibroblast repair and regeneration by protecting oxidative stress[J]. *RSC Advances*, 2021 May; 11(31):19265-19282. IF:3.361
18. Li Jianda,Yuan Chen,Liu Peng et al. Red blood cells serve as a vehicle for PEDV transmission.[J].*Vet Microbiol*, 2021, 257: 109081. IF:3.293
19. Ali A, Elsherbiny D, Azab S, et al. The diuretic amiloride attenuates doxorubicin-induced chemobrain in rats: Behavioral and mechanistic study[J]. *Neurotoxicology*, 2021, 88:1-13. IF:3.088
20. Yang H, Gan S, Jiang Z, et al. Protective effects of essential oil from *Fructus Alpiniae zerumbet* on retinal Müller gliosis via the PPAR- γ -p-CREB signaling pathway[J]. *Chinese Medicine*, 2020, 15(1): 4. IF:2.96
21. Chen Wenqi,Li Yuehua,Zhong Jing et al. circ-PRKCI targets miR-1294 and miR-186-5p by downregulating FOXK1 expression to suppress glycolysis in hepatocellular carcinoma.[J].*Mol Med Rep*, 2021, 23: undefined. IF:2.952
22. Cui Y, Wang Y, Liu G. Protective Effect of Barbaloin in a Rat Model of Myocardial Ischemia Reperfusion Injury Through the Regulation of the CNPY2?PERK Pathway[J]. *International Journal of Molecular Medicine*, 2019. IF:2.928

23. Li H, Xia T, Guan Y, et al. Sevoflurane Regulates Glioma Progression by Circ_0002755/miR-628-5p/MAGT1 Axis[J]. Cancer Management and Research, 2020, 12: 5085. IF:2.886
24. Cheng F, Yu J, Zhang X, et al. CircSEC31A Promotes the Malignant Progression of Non-Small Cell Lung Cancer Through Regulating SEC31A Expression via Sponging miR-376a[J]. Cancer Management and Research, 2020, Volume 12:11527-11539. IF:2.886
25. Sanjeev S, Murthy M K, Devi M S, et al. Isolation, characterization, and therapeutic activity of bergenin from marlberry (*Ardisia colorata* Roxb.) leaf on diabetic testicular complications in Wistar albino rats[J]. Environmental Science and Pollution Research, 2019: 1-20. IF:2.8
26. Dede A, Arslanyolu M. The in vivo *Tetrahymena thermophila* extracellular glucose drop assay for characterization of mammalian insulin activity[J]. European Journal of Protistology, 2021, 79(1):125803. IF:2.432
27. Wang F, Chen H, Chen Y, et al. Diet-induced obesity is associated with altered expression of sperm motility-related genes and testicular post-translational modifications in a mouse model[J]. Theriogenology, 2020. IF:2.094
28. Bhargava P, Verma V K, Malik S, et al. Hesperidin Regresses Cardiac Hypertrophy by Virtue of PPAR- γ Agonistic, Anti-Inflammatory, Antiapoptotic, and Antioxidant Properties[J]. Journal of biochemical and molecular toxicology, 2019: e22283. IF:1.837
29. Adeyemi W J, Abdussalam T A, Abdulrahim A, et al. Elevated, sustained, and yet reversible biotoxicity effects of lead on cessation of exposure: Melatonin is a potent therapeutic option[J]. Toxicology and Industrial Health, 2020, 36(7): 477-486. IF:1.708
30. Ustunova S, Takir S, Yilmazer N, et al. Hydrogen sulphide and nitric oxide cooperate in cardioprotection against ischemia/reperfusion injury in isolated rat heart[J]. in vivo, 2020, 34(5): 2507-2516. IF:1.541