

(本试剂盒仅供体外研究使用，不用于临床诊断!)

产品货号: E-BC-K056-M

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 E-BC-K318-M)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 °C 保存 6 个月
试剂二 (Reagent 2)	底物 (Substrate)	1.5 mL × 2 支	-20 °C 保存 6 个月
试剂三 (Reagent 3)	显色剂 (Chromogenic Agent)	1.5 mL × 2 支	-20 °C 避光 保存 6 个月
试剂四 (Reagent 4)	缓冲液 (Buffer Solution)	4 mL × 1 瓶	-20 °C 保存 6 个月
试剂五 (Reagent 5)	标准品 (Standard)	粉剂 × 1 支	-20 °C 避光 保存 6 个月
	96 孔酶标板	1 板	
	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 $\mu\text{mol/L}$ 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($\mu\text{mol/L}$)	0	50	100	150	250	350	400	500
500 $\mu\text{mol/L}$ 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 $^{\circ}\text{C}$ 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 $^{\circ}\text{C}$ 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：**E-BC-K318-M**)。

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℃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℃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。

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

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

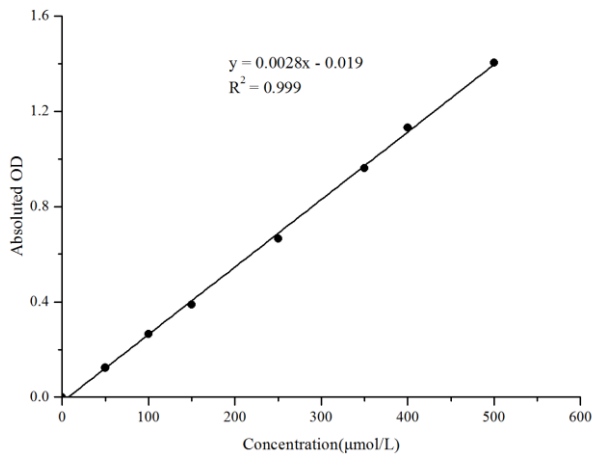
检测范围	0.01-50 U/L	平均批间差	5.8 %
灵敏度	0.01 U/L	平均批内差	2.1 %

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 $\mu\text{mol/L}$	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

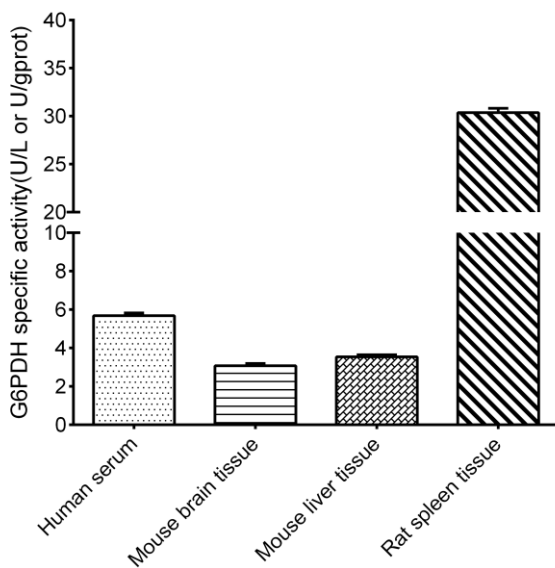
例如检测小鼠脑组织(数据仅供参考):

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:

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

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