

6-磷酸葡萄糖酸脱氢酶（6PGDH）活性检测试剂盒说明书

紫外分光光度法

货号: BC2100

规格: 50T/48S

产品组成：使用前请认真核对试剂体积与瓶内体积是否一致，有疑问请及时联系索莱宝工作人员。

试剂名称	规格	保存条件
试剂一	液体 100 mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂二	粉剂×1 瓶	-20℃保存
试剂三	粉剂×1 瓶	2-8℃保存

溶液的配制：

- 1、试剂二：临用前配制，加入 5 mL 试剂一，混匀；
- 2、试剂三：临用前配制，加入 5 mL 试剂一，混匀。

产品说明：

磷酸戊糖途径途径中 6-磷酸葡萄糖脱氢酶（G6PDH）和 6-磷酸葡萄糖酸脱氢酶（6PGDH）依次催化 NADPH 合成，与能量的平衡、生长速率和细胞活力等密切相关。此外，6PGDH 逆境生理中具有重要作用。

6PGDH 催化 6-磷酸葡萄糖酸和 NADP⁺生成 NADPH，NADPH 在 340nm 有特征吸收峰，而 NADP⁺没有；通过测定 340nm 吸光度增加速率，计算 6PGDH 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。

需自备的仪器和用品：

紫外分光光度计、低温离心机、水浴锅、可调式移液枪、1mL 石英比色皿、研钵/匀浆器、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）

称约 0.1g 组织，加入 1mL 试剂一，冰上充分研磨，10000rpm 4℃离心 10min，取上清粗酶液，待测。

二、测定步骤

1. 紫外分光光度计预热 30min 以上，调节波长到 340nm，蒸馏水调零。
2. 试剂一置于 37℃水浴预热 30min 以上。
3. 加样表：在 1mL 石英比色皿中依次加入

试剂名称（μL）	测定管（μL）	空白管（μL）
样本	100	-
蒸馏水	-	100
试剂一	700	700
试剂二	100	100
试剂三	100	100





于 340nm 处测定 3min 内吸光值变化, 第 0s 吸光值记为 A1, 第 180s 吸光值记为 A2。记 ΔA 测定=A2 测定-A1 测定, ΔA 空白=A2 空白-A1 空白。

三、6PGDH 活性计算

(1) 按蛋白浓度计算

活性单位定义: 每毫克蛋白每分钟催化产生 1nmol NADPH 的酶量为 1 个酶活单位。

$$\begin{aligned} 6PGDH \text{ 酶活性(U/mg prot)} &= [(\Delta A \text{ 测定} - \Delta A \text{ 空白}) \div (\epsilon \times d) \times 10^9 \times V \text{ 反总}] \div (C_{pr} \times V \text{ 样}) \div T \\ &= 536 \times (\Delta A \text{ 测定} - \Delta A \text{ 空白}) \div C_{pr} \end{aligned}$$

(2) 按样本质量计算

活性单位定义: 每克组织每分钟催化产生 1nmol NADPH 的酶量为 1 个酶活单位。

$$\begin{aligned} 6PGDH \text{ 酶活性(U/g 质量)} &= [(\Delta A \text{ 测定} - \Delta A \text{ 空白}) \div (\epsilon \times d) \times 10^9 \times V \text{ 反总}] \div (W \div V \text{ 样总} \times V \text{ 样}) \div T \\ &= 536 \times (\Delta A \text{ 测定} - \Delta A \text{ 空白}) \div W \end{aligned}$$

ϵ : NADPH 摩尔消光系数, $6.22 \times 10^3 \text{ L/mol/cm}$; d : 1mL 石英 1mL 石英比色皿光径, 1cm; V 反总: 反应体系总体积, 0.001L; C_{pr} : 粗酶液蛋白质浓度, mg/mL, 需要另外测定; V 样: 反应体系中加入粗酶液体积, 0.1mL; V 样总: 提取液体积, 1mL; T : 反应时间, 3min; W : 样本质量, g。

注意事项:

1. 样本处理等过程均需要在冰上进行, 且须在提取当日完成酶活性测定, 粗酶液避免反复冻融。
2. 试剂二和试剂三须现配现用, 当天未用完试剂保存在 4°C, 可保存 1 周。
3. 若样本初始 (0s) 读值大于 0.5 且 ΔA 测定小于 0.1, 可尝试将样本进行稀释后测定。

实验实例:

1. 称约 0.1g 肾脏组织, 加入 1mL 试剂一, 冰上充分研磨, 10000rpm 4°C离心 10min, 取上清稀释 10 倍, 测得计算 ΔA 测定=A2 测定-A1 测定=0.256-0.154=0.102, ΔA 空白=A2 空白-A1 空白=0, 按样本质量计算酶活得: $6PGDH \text{ 酶活性(U/g 质量)} = 536 \times (\Delta A \text{ 测定} - \Delta A \text{ 空白}) \div W \times 10$ (稀释倍数) = 5467.2 U/g 质量。

相关发表文献:

- [1] Chen YT, Yang KX, Dai ZY, Yi H, Peng XX, Li H, Chen ZG. Repressed Central Carbon Metabolism and Its Effect on Related Metabolic Pathways in Cefoperazone/Sulbactam-Resistant *Pseudomonas aeruginosa*. *Front Microbiol*. 2022 Mar 3;13:847634. doi: 10.3389/fmicb.2022.847634. PMID: 35308347; PMCID: PMC8927769.
- [2] Ou-Yang YN, Yuan MD, Yang ZM, Min Z, Jin YX, Tian ZM. Revealing the Pathogenesis of Salt-Sensitive Hypertension in Dahl Salt-Sensitive Rats through Integrated Multi-Omics Analysis. *Metabolites*. 2022 Nov 7;12(11):1076. doi: 10.3390/metabo12111076. PMID: 36355159; PMCID: PMC9694938.
- [3] Li T, Yang W, Xu X, Zhang Y, Chen J, Zou X. Coproduction of polymalic acid and liamocins from two waste by-products from the xylitol and gluconate industries by *Aureobasidium pullulans*. *Bioprocess Biosyst Eng*. 2021 Sep;44(9):1965-1974. doi: 10.1007/s00449-021-02578-8. Epub 2021 May 8. PMID: 33963907.

相关系列产品:

- BC1110/BC1115 NADP 磷酸酶 (NADPase) 活性检测试剂盒
- BC0260/BC0265 6-磷酸葡萄糖脱氢酶 (G6PDH) 活性检测试剂盒
- BC0400/BC0405 胞浆异柠檬酸脱氢酶 (ICDHc) 活性检测试剂盒
- BC1120/BC1125 NADP 苹果酸酶 (NADP-ME) 活性检测试剂盒

