

葡萄糖-6-磷酸脱氢酶(G6PD)检测试剂盒(简易微板法)

产品简介:

葡萄糖-6-磷酸脱氢酶(glucose 6-phosphatedehydrogenase, G-6-PD 或 G6PD)是糖酵解途径、柠檬酸循环以外的另一个葡萄糖分解途径的磷酸葡萄糖酸途径(磷酸戊糖途径)中的第一个酶(EC1.1.1.49)。

Yuanye 葡萄糖-6-磷酸脱氢酶(G6PD)检测试剂盒(简易微板法)其检测原理是红细胞 G-6-PD 催化葡萄糖-6-磷酸(G-6-P)生成葡萄糖-6-磷酸葡萄糖-δ-内酯, 后者很快氧化成 6-磷酸葡萄糖酸(6-PGA), 同时 NADP^+ 被还原成 NADPH, 其反应公式如下:
 $\text{G-6-P} + \text{NADP}^+ \rightarrow 6\text{-PGA} + \text{L-NADPH}$ 。在上述偶联反应中 NADPH 生成速率与样本中酶活性呈正比, 通过酶标仪或自动分析仪在 340nm 处检测吸光度升高速率($\Delta A/\text{min}$), 升高速率($\Delta A/\text{min}$)与 G-6-PD 活性呈正比, 直接计算酶的活性单位。100T 该试剂盒试剂可以检测 50 次样本, 该试剂盒仅用于科研领域, 不宜用于临床诊断或其他用途。

产品组成:

名称 \ 编号	R21807 100T	Storage
试剂(A): 样本稀释液	30ml	-20°C 避光
试剂(B): G6PD Assay buffer	30ml	4°C
试剂(C): NADP	9mg	-20°C
试剂(D): G-6-P	1 支	-20°C
试剂(E): G-6-P 稀释液	10ml	RT
使用说明书	1 份	

自备材料:

- 1、生理盐水、血红蛋白含量检测试剂盒
- 2、水浴锅或恒温箱、离心管、离心机、96 孔 UV 酶标板、酶标仪

操作步骤(仅供参考):

- 1、准备溶血液: 取新鲜抗凝血, 3000g 离心 30min, 可见血液各成分按重力不同而分层, 上层淡黄色液体是血浆, 下层不透明的暗红色血栓为红细胞, 红细胞与血浆之间的一薄层白膜是白细胞和血小板, 弃上清及白细胞层, 用 4°C 预冷的生理盐水洗涤 2 次, 每次取上清时, 务必去除剩余的白细胞层, 再加预冷的生理盐水配成含红细胞压积为 30% 的红细胞悬液, 4°C 保存 8h, -20°C 保存 48h。临用前, 以样本稀释液稀释 20~25 倍, 即为溶血液。
- 2、配制 NADP 储存液: 取 9mg NADP 溶解于 1ml G6PD assay buffer, 充分混匀, 配

制成 NADP 储存液(9mg/ml), -20℃保存备用。

- 3、配制检测工作液:取 NADP 储存液和 G6PD assay buffer, 按 NADP 储存液(9mg/ml): G6PD assay buffer=1: 49 的比例混合, 即为检测工作液。 -20℃保存 1 个月有效。
- 4、配制 G-6-P 工作液: 取 G-6-P 1 支溶解于 G-6-P 稀释液 10ml 即为 G-6-P 工作液, 分装成小份后, -20℃保存备用。
- 5、酶标仪检测: 按照下表设置空白孔、测定孔, 溶液应按照顺序依次加入, 并注意避免产生气泡。如果样品中的酶活性过高, 可以减少样品用量或适当稀释后再进行测定。对于量程比较大的比色杯, 其加样量应相应增多, 检测样本量则对应减少; 对于量程比较小的比色杯, 其加样量应相应减少, 检测样本量则对应增加。

加入物 (μl)	空白孔	测定孔
检测工作液(37℃预温)	220	220
G6PD Assay buffer	5	—
溶血液	—	5
混匀, 37℃孵育 10min。		
G-6-P 工作液	25	25
混匀, 酶标仪波长 340nm, 立即以空白孔调零, 检测 1~3min 各孔吸光度升高速率ΔA/min。		

计算:

酶标仪计算公式:

$$G6PD(U/L) = \Delta A / \text{min} \times (10^6 / 6220) \times (250 / 5) = \Delta A / \text{min} \times 8040$$

$$G6PD(U/g \text{ Hb}) = \Delta A / \text{min} \times 8040 / \text{Hb}$$

式中: 6220=NADH 的摩尔吸光度

250=反应液的总体积(μl)

5=待测样品体积(μl)

Hb=血红蛋白含量(g/L 溶血液)

参考范围: 成年健康人红细胞 G6PD: 8~18U/g Hb 900~3100 U/L

注意事项:

- 1、红细胞比容又称红细胞压积, 指红细胞占全血容积的百分比, 反映红细胞和血浆的比例。红细胞比容正常值:37~50%, 女低于男; 生理意义是影响血黏度(带氧能力)的主要因素。
- 2、全血标本中 G6PD 活性在室温可以保存 2 天, 4℃保存 1 周, -20℃保存 1 个月。但 Yuanye 建议 4℃保存 10h, -20℃保存 48h, 以免活性下降。

- 3、溶血液样本 G6PD 活性不稳定, 4℃保存 8h, -20℃保存 48h。
- 4、本试剂盒不提供 Hb 的测定试剂, 需客户单独购买。
- 5、严重黄疸、脂血或溶血的血清, 可能会引起测定管吸光度增高。
- 6、为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。

有效期: 6 个月有效, 低温运输, 按要求存放。