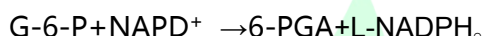


葡萄糖-6-磷酸脱氢酶(G6PD)检测试剂盒(简易比色法)

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)。

源叶生物 葡萄糖-6-磷酸脱氢酶(G6PD)检测试剂盒(简易比色法)其检测原理是红细胞 G-6-PD 催化葡萄糖-6-磷酸葡萄糖-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：



在上述偶联反应中，NADPH 生成速率与样本中酶活性呈正比，通过分光光度计或自动分析仪在 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，比色杯光径 1.0cm，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：

	100T	
试剂(A): 样本稀释液	100ml	-20℃ 避光
试剂(B): G6PD assay buffer	100ml	4℃
试剂(C): NADP	18mg	-20℃
试剂(D): G-6-P	1 支	-20℃
试剂(E): G-6-P 稀释液	10ml	RT

自备材料：

- 1、生理盐水
- 2、水浴锅
- 3、比色杯
- 4、分光光度计

操作步骤(仅供参考)：

- 1、准备溶血液：取新鲜抗凝血，离心取上清及白细胞层，用 4℃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℃保存备用。临用前，以样本稀释液稀释 25 倍，即为溶血液。4℃保存 10h，-20℃保存 48h。
- 2、配制 NADP 储存液：取 18mg NADP 溶解于 1ml G6PD assay buffer，充分混匀，配制成 NADP 储存液(18mg/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(18mg/ml) : G6PD assay buffer=1 : 99 的比例混合，即为检测工作液。-20℃保存，一个月有效。
 - 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，混匀，即为 G-6-P 工作液，分装成小份后，-20℃保存备用。
 - 5、分光光度计检测：按照下表设置空白管、测定管，溶液应按照规定顺序依次加入，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。

加入物	空白管	测定管
检测工作液(μl)(37℃预温)	880	880
G6PD assay buffer (μl)	20	—
溶血液(μl)	—	20
混匀，37℃孵育 10min。		
G-6-P 工作液(μl)	100	100
混匀，37℃孵育 60s，在 340nm 处 1-3min 各管吸光度变化，计算各管ΔA/min。		

- 6、生化分析仪检测：按照下表设置主要参数。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。

波长	340nm
反应温度	37℃
孵育时间	90s
连续监测时间	60s
比色杯光径	1.0cm
系数	8040
待测样品	6μl
检测工作液	264μl
G-6-P 工作液	33μl

计算：

分光光度计计算公式： $G6PD(U/L) = \Delta A/min \times (10^{-6}/6220) \times (1000/20) = \Delta A/min \times 8040$

式中：6220=NADH 的吸光度

1000=反应液的总体积(μl)

20=待测样品体积(μl)

生化分析仪计算公式： $\text{G6PD}(\text{U/L}) = \Delta A/\text{min} \times (10^6/6220) \times (303/6) = \Delta A/\text{min} \times 8040$

式中： $\Delta A/\text{min}$ =测定的 340nm 吸光度的升高速率

6220=NADH 的吸光度

303=反应液的总体积(μl)

6=待测样品体积(μl)

参考范围：

成年健康人红细胞 G6PD：8-18U/g Hb

注意事项：

- 1、血清中 G6PD 活性在室温可以保存 2 天，4℃保存 1 周，-20℃保存 1 个月。
- 2、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。
- 3、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。