

G6PD 检测方法
(Glucose-6-phosphate Dehydrogenase)
S10078

1 原理

D Glucose -6 -phosphate + NAD⁺→D-Glucono -8-lactone 6-phosphate + NADH+ H⁺
NADH 的产生可以通过 340nm 的光吸收进行检测。

2 试剂:

A 55mM Tris-HCl 缓冲液, pH 7.8:含 3.3mM MgCl₂

B 60mM NAD 溶液:新鲜配制 0.04gNAD⁺溶于 1ml 水中

C 0.1M G-6-P 溶液: 新鲜配制称取 26mg G-6-P 溶解于 1ml 超纯水中。

D 酶稀释液: 5mM Tris-HCl 缓冲液, pH7.5, 含 0.1% BSA.

3 操作规程:

3.1 仪器参数设定

若仪器中无已保存参数, 按以下参数设定。若已有相关参数, 调取后确认。

检测方法:动力学扫描

测量波长: 340nm 测量时间: 180s

延迟时间: 60s 积分时间: 120s

系数/因子: 4.82 测量温度: 30±0.5℃

3.2 样品准备

若待测样品为固体, 可以按 10mg 样品/1000ul 超纯水比例溶解。溶解后于 2-8 度放置 30min。

3.3 检测方法

3.3.1 在石英比色皿中加入 2.7ml 试剂 A, 100ul 试剂 B, 100ulC 于 30 度孵 2min。

3.3.2 加入 100ul 样品后,温和混匀后开始测定。

3.3.3 测定结束后, 记录相应数值:起始读数、 $\Delta A/\text{min test}$ 、活性值(U/ml)。

3.3.4 活性值(U/ml) 范围为 0.05-0.20U/ml, 若超出范围, 待测样品需经试剂 D 稀释后再次进行检测。

3.3.5 测定样品前需检测空白反应值, 即其他操作不变, 用 100ul D 代替样品加入比色皿后进行反应,测定 $\Delta A/\text{min blank}$ 。

3.3.6 计算公式活性(U/ml) = $(OA/\text{min test} - \Delta A/\text{min blank}) \times 4.82 \times df$ (稀 释倍数)