

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)。

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NAPD⁺被还原成NADPH,其反应公式如下: G-6-P+NAPD⁺→6-PGA+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(ΔA/min),升高速率(ΔA/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	ADS016TE0	Storage
		100T	
试剂(A):样本稀释液		30ml	4℃ 避光
试剂(B):G6PD Assay buffer		30ml	RT
试剂(C):NADP		9mg	-20℃
试剂(D):G-6-P		1支	-20℃
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℃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8h,-20℃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9mgNADP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：

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

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

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/gHb 900~3100U/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。低温运输，按要求保存。