

葡萄糖-6-磷酸脱氢酶(G6PD)检测试剂盒(简易微板法)说明书

本产品仅供体外研究使用，不得用于临床诊断

产品简介：

葡萄糖-6-磷酸脱氢酶(glucose6-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(简易比色法)其检测原理是红细胞 G-6-PD 催化葡萄糖-6-磷酸(G-6-D)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: $G-6-P+NADP^+ \rightarrow 6-PGA+L-NADPH$ 。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(A/min),升高速率(A/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	规格	保存条件
葡萄糖-6-磷酸脱氢酶(G6PD)检测试剂盒	100T	4℃
试剂(A):样本稀释液	30ml	-20℃避光
试剂(B):G6PD Assay buffer	30ml	4℃
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	
有效期	6个月	

自备材料：

- 1、生理盐水
- 2、水浴锅或恒温箱
- 3、96孔板、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 10h，-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 1mlG6PDassaybuffer，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 G6PDassaybuffer，按 NADP 储存液(9mg/ml)：G6PDassaybuffer=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-P1 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
G6PDAssaybuffer	5	—
溶血液	—	5
混匀，37℃ 孵育 10min。		
G-6-P 工作液	25	25
混匀，37℃ 孵育 60s，以空白孔零，在 340nm 处 1~3min 各孔吸光度变化，计算各管 A/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	6 μl
检测工作液	264 μl
G-6-P 工作液	33 μl

计算:

分光光度计计算公式:

$$G6PD(U/L)=A/\text{min} \times (106/6220) \times (1000/20)=A/\text{min} \times 8040$$

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

式中: 6220=NADH 的吸光度

1000=反应液的总体积(μ l)

20=待测样品体积(μ l)

Hb=血红蛋白含量(g/L 溶血液)

生化分析仪计算公式:

$$G6PD(U/L)=A/\text{min} \times (106/6220) \times (303/6)=A/\text{min} \times 8040$$

$$G6PD(U/gHb)=A/\text{min} \times 8040/Hb(g/L \text{ 溶血液})$$

式中: A/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(μ l)

6=待测样品体积(μ l)

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 1300~3600U/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。
- 2、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。
- 3、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。但建议 4℃保存 10h,-20℃保存 48h,以免活性下降。
- 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。