

## 植物6-磷酸葡萄糖脱氢酶(G6PDH)活性检测试剂盒说明书

产品货号	产品名称	包装规格	测定方法
PYFC4-M48	6-磷酸葡萄糖脱氢酶 (G6PDH)活性检测试剂盒	48T	微量法
PYFC4-M96		96T	

### 一、测定意义：

6-磷酸葡萄糖脱氢酶 (G6PDH) 是戊糖磷酸途径中的关键限速酶，生成的核糖-5-磷酸 (R-5-P) 和还原型辅酶 II (NADPH) 在核苷酸、脂质等生物的合成及维持氧化还原的动态平衡中起着至关重要的作用，在植物逆境胁迫响应和生长发育中具有重要意义。

### 二、测定原理：

G6PDH 催化  $\text{NADP}^+$  还原生成 NADPH, NADPH 与特异的显色剂反应，产生在 450nm 处有最大吸收峰的有色物质，通过检测该有色物质在 450nm 的增加速率，进而计算出 G6PDH 酶活性的大小。

### 三、试剂组成：

试剂名称	试剂装量(48T)	试剂装量(96T)	保存条件
提取液	液体 60mL×1 瓶	液体 110mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂一	液体 10ml ×1 瓶	液体 20ml ×1 瓶	2-8℃保存
试剂二	粉剂×1 瓶	粉剂×2 瓶	-20℃保存
试剂三	粉剂×1 支	粉剂×2 支	-20℃保存
<b>工作液的配制：</b> 将 1 瓶试剂二和 1 支试剂三转移至 1 瓶试剂一中混匀充分溶解，用不完的试剂分装后-20℃保存两周，禁止反复冻融。			
试剂四	液体 0.7mL×1 支	液体 0.7mL×2 支	2-8℃保存

### 四、操作步骤：

#### 样本前处理

取一定量植物组织擦净水分及杂质，剪碎后放入研钵，加入液氮，研磨成粉状后转移出来，然后准确称重，按照组织质量 (g)：提取液体积 (mL) 为 1: 5~10 的比例 (建议称取约 0.1g 组织，加入 1mL 提取液) 处理样品，室温研磨至匀浆，4℃ 10000 g 离心 10 min，取上清即为粗酶液，置于冰上待测。

#### 测定步骤

- 1、酶标仪预热 30min 以上，调节波长至 450nm，蒸馏水调零；
- 2、测定前将工作液于 25℃ 水浴 10min；
- 3、操作表(在 96 孔板中加入以下试剂)：

试剂名称	测定管
上清液 (μL)	10
工作液 (μL)	180
试剂四 (μL)	10

混匀后立即记录 450nm 处初始吸光值 A1 和 5min 后的吸光值 A2，计算  $\Delta A = A2 - A1$ 。

#### 五、6-磷酸葡萄糖脱氢酶(G6PDH)活性测定：

- 1、标准曲线： $y = 0.0871x - 0.0051$ ,  $R^2 = 0.9998$ ; x 是 NADPH 摩尔质量: nmol, y 是  $\Delta A$ 。

#### 2、按样本蛋白浓度计算

**单位定义：**在 37℃，每毫克组织蛋白每分钟使 1nmol 6-磷酸葡萄糖氧化成 1nmol 6-磷酸葡萄糖酸内酯并且使 1nmol  $\text{NADP}^+$  转换成 1nmol NADPH 定义为一个酶活力单位。

**计算公式：**  $\text{G6PDH (nmol/min/mg prot)} = [(\Delta A + 0.0051) \div 0.0871] \div (V_{\#} \times C_{\text{pr}}) \div T = 229.62 \times (\Delta A + 0.0051) \div C_{\text{pr}}$

#### 3、按样本质量计算

**单位定义：**在 37℃，每克组织每分钟使 1nmol 6-磷酸葡萄糖氧化成 1nmol 6-磷酸葡萄糖酸内酯并且使 1nmol  $\text{NADP}^+$  转换成 1nmol NADPH 定义为一个酶活力单位。

**计算公式：**  $\text{G6PDH (nmol/min/mg)} = [(\Delta A + 0.0051) \div 0.0871] \div (V_{\#} \times W \div V_{\text{提取}}) \div T = 229.62 \times (\Delta A + 0.0051) \div W$

$V_{\#}$ : 样本取样量 0.01mL;  $V_{\text{提取}}$ : 加入提取液体积, 1mL;  $W$ : 样本质量, g;  $C_{\text{pr}}$ : 蛋白浓度 mg/mL;  $T$ : 反应时间 5min。

**六、 注意事项：**

1、测定样本时，若吸光度差值 $\Delta A$  大于 0.5，需将酶液用提取液稀释，

或将反应时间缩短至 2min，若 $\Delta A$  为负值，可延长反应时间。

2、为保证结果准确且避免试剂损失，测定前请仔细阅读说明书（以

实际收到说明书内容为准），确认试剂储存和准备是否充分，操作步

骤是否清楚，且务必取 2-3 个预期差异较大的样本进行预测定，过

程中问题请您及时与工作人员联系。

**【厂家信息】**

生产企业：南京陌凡生物科技有限公司

地址：南京市栖霞区红枫科技园 A6 栋 2 层

**【售后微信】****【说明书核准及修改日期】**

核准日期：2025 年 4 月 7 日

修改日期：2025 年 4 月 7 日