

葡萄糖-6-磷酸脱氢酶(G-6-PD)测定试剂盒说明书(精简版)

(货号：A027-1-1 高铁血红蛋白还原法 100T/30 样)

免责声明：测试前请仔细阅读说明书,预试后再进行批量实验，
否则由此导致的后果用户自行承担!

一、测定原理：

正常血红蛋白是亚铁血红蛋白，可被氧化成为高铁血红蛋白，当红细胞内 G-6-PD 含量正常时，通过戊糖代谢旁路形成的 NADPH 可作为血液中高铁血红蛋白还原酶的辅酶，并在递氢体的参与下，高铁血红蛋白还原为亚铁血红蛋白。当红细胞内缺少 G-6-PD 时，高铁血红蛋白不能被还原，通过测定高铁血红蛋白的还原率，可算出 G-6-PD 的活力高低。

二、所需仪器耗材及试剂：

含 640nm 波长的分光光度计及 1cm 光径比色皿、37℃水浴锅或恒温箱、台式低速离心机、各种规格移液器、双蒸水、生理盐水（0.9%）或 PBS（0.1M）、涡旋混匀器、试管或离心管、血红蛋白测定试剂（本公司有售）。

三、试剂组成与配制：(试剂盒有效期 6 个月)

- 试剂一：液体 3mL×1 瓶，室温保存。
- 试剂二：粉剂甲×1 支，粉剂乙×1 支，4~8℃保存。
试剂二应用液的配制：用时将甲粉剂倒入乙粉剂中，再加双蒸水 10mL 混匀，充分溶解后于 4℃~8℃保存。
- 试剂三：贮备液 80mL×2 瓶，4~8℃保存。
试剂三应用液的配制：用时贮备液：双蒸水=1:9 稀释配成应用液，4~8℃保存。
- 试剂四：葡萄糖粉剂 2 支，生理盐水 30mL×1 瓶，4~8℃保存。
葡萄糖液的配制：用时每支粉剂加生理盐水 3mL，溶解后冷冻保存（-20℃），以防霉变。

四、操作步骤：

(一)、样本前处理：抽取静脉血 2mL，用肝素抗凝或 3.8%柠檬酸钠溶液抗凝，加葡萄糖液 20μL 颠倒混合。

(二)、操作表：

	测定管	对照管	空白管
处理好的全血（mL）	0.2	0.2	0.2
试剂一（mL）	0.01		
试剂二应用液（mL）	0.01	0.01	
双蒸水（mL）		0.01	0.02
充分混匀，与空气中的氧气充分接触，加塞*置 37℃，水浴 3 个小时。保温后，请再充分混匀后进行下面的操作。			
保温好的混合液（mL）	0.05	0.05	0.05
试剂三应用液（mL）	5	5	5
充分混匀,2 分钟后 3000 转/分钟,离心 10 分钟,取上清在 640nm 处,1cm 光径，双蒸水调零比色,测各管的吸光度。			

* 若没有塞子也可用塑料薄膜封口，用橡皮筋扎紧。

五、计算公式及举例

1、活力定义：37℃下，每毫升全血催化反应后使得高铁血红蛋白还原率达到 50%时为一个酶活力单位（U）

2、计算公式：

$$\text{高铁血红蛋白还原率 (\%)} = \frac{A_{\text{对照}} - A_{\text{测定}}}{A_{\text{对照}} - A_{\text{空白}}} \times 100\%$$
$$\text{G - 6 - PD活力 (U/mL 全血)} = \frac{\text{高铁血红蛋白还原率 (\%)}}{50\%} \times \text{N}$$

N：全血前处理（加葡萄糖液）稀释倍数， $\frac{2.02\text{mL}}{2\text{mL}}$ 。

六、注意事项：

抗凝剂以 38 克/升柠檬酸钠，或输血时用的抗凝剂 ACD 为好。血液标本可保存 1 周左右，ACD 抗凝剂不宜太多，血液与 ACD 抗凝剂按 1: 0.15 混合即可,否则可因 PH 降低而使高铁血红蛋白还原速度减慢，以致出现假阳性。也可用肝素抗凝（每毫升血液用肝素 0.5 毫克），但标本只能保存 3 天。草酸钾抗凝血不能用。

七、测定意义：

红细胞中 G-6-PD 催化反应生成的 NADPH 是谷胱甘肽还原酶的辅酶。还原型谷胱甘肽（GSH）是保持血红蛋白稳定性及红细胞膜完整性的必要条件，代谢产生的自由基，或与氧合血红蛋白作用形成的 H₂O₂，使 GSH 氧化成 GSSG，由于 GSH 低，血红蛋白的巯基失去 GSH 的保护，被氧化变性形成 Heinz 小体，红细胞膜失去巯基保护而功能受损，终致溶血。