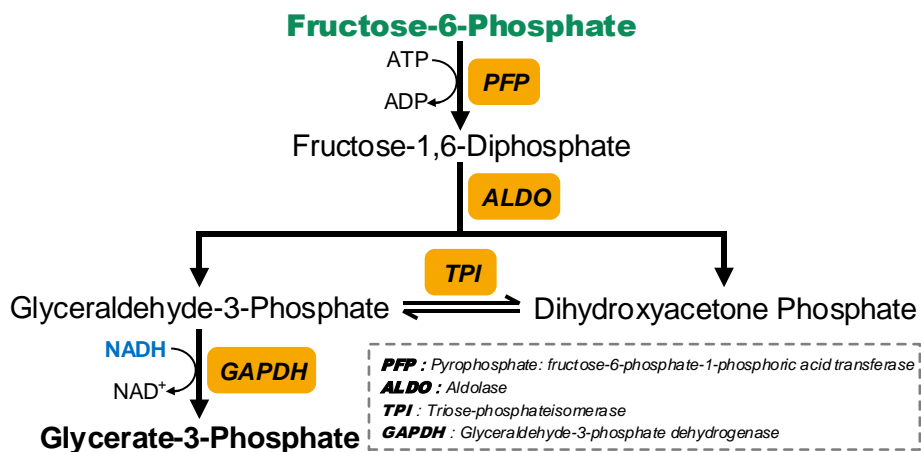




焦磷酸：果糖-6-磷酸-1 磷酸转移酶（PFPP）活性检测试剂盒

Pyrophosphate:Fructose-6-Phosphate-1 Phosphotransferase (PFPP) Activity Assay Kit



北京盒子生工科技有限公司
Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.



焦磷酸：果糖-6-磷酸-1 磷酸转移酶（PFK）活性检测试剂盒

Pyrophosphate:Fructose-6-Phosphate-1 Phosphotransferase (PFK) Activity Assay Kit

一、产品描述

焦磷酸：果糖-6-磷酸-1-磷酸转移酶（PFK）是一种广泛存在于植物组织及一些微生物体内的胞质酶，通过磷酸化和去磷酸化可逆地催化果糖-6-磷酸与果糖-1,6-二磷酸之间的转化，在光合作用碳代谢中起重要作用。

PFK 能够催化 6-磷酸果糖转化为 1,6-二磷酸果糖，在醛缩酶和磷酸丙糖异构酶的作用下转变为 3-磷酸甘油醛，再通过 3-磷酸甘油醛脱氢酶催化 3-磷酸甘油醛和 NADH 生成 3-磷酸甘油酸、NAD 和磷酸，NADH 在 340 nm 处具有特征吸收峰，通过吸光值变化即可表征 PFK 的活性。

二、产品内容

名称	试剂规格	储存条件	使用说明及注意事项
提取液	液体 100 mL×1 瓶	4°C保存	-
试剂一	液体 10 mL×1 瓶	4°C保存	-
试剂二	粉剂×1 瓶	-20°C保存	使用前加入 2 mL 蒸馏水充分溶解 (分装后-20°C可保存两周，禁止反复冻融)
试剂三	粉剂×1 瓶	-20°C保存	使用前加入 2 mL 蒸馏水充分溶解 (分装后-20°C可保存两周，禁止反复冻融)
试剂四	液体 1 mL×1 支	4°C保存	-
试剂五	液体 1 mL×1 支	4°C保存	-
试剂六	液体 2 mL×1 瓶	4°C保存	-

三、产品使用说明

测定过程中所需要的仪器和试剂：紫外分光光度计/酶标仪、微量石英比色皿（光径 10 mm）/96 孔 UV 板、可调式移液器/多道移液器、台式离心机、研钵/匀浆器、恒温水浴/培养箱和蒸馏水。

1.粗酶液的制备（可根据预实验结果适当调整样本量及比例）

①组织：按照组织质量（g）：提取液体积（mL）为 1:（5-10）的比例（建议称取 0.1 g 组织，加入 1 mL 提取液）处理样品，冰浴匀浆，4°C 10000 g 离心 10 min，取上清置于冰上待测。

②细菌或细胞:离心收集细菌或细胞至离心管内,按照细菌或细胞数量(10^4 个):提取液体积(mL)为(500-1000):1的比例(建议500万细菌或细胞加入1 mL提取液)处理样本,冰浴超声破碎(功率300 W,超声3 s,间隔7 s,总时间3 min), 4°C 10000 g离心10 min,取上清置于冰上待测。

③液体样本:直接检测或适当稀释后进行检测。

2.测定步骤

①分光光度计或酶标仪预热30 min以上,调节波长至340 nm,蒸馏水调零。

②在96孔UV板或微量石英比色皿中依次加入下列试剂:

试剂	测定组 (μL)
试剂一	100
试剂二	20
试剂三	20
试剂四	10
试剂五	10
试剂六	20
粗酶液	20

吸光值测定:充分混匀并立即开始计时,测定10 s时340 nm处吸光值,记为A1;准确反应300 s,测定310 s时340 nm处吸光值,记为A2;计算 $\Delta A = A1 - A2$ 。

3.焦磷酸:果糖-6-磷酸-1磷酸转移酶(PFP)活性计算

3.1 使用96孔UV板测定的计算公式

①按组织蛋白浓度计算

单位定义:每mg组织蛋白每分钟消耗1 nmol NADH定义为一个酶活力单位。

$$\text{PFP (U/mg prot)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times 10^9}{\epsilon \times d_1 \times V_{\text{样}} \times \text{Cpr} \times T} = \frac{643.09 \times \Delta A}{\text{Cpr}}$$

②按组织样本质量计算

单位定义:每g组织每分钟消耗1 nmol NADH定义为一个酶活力单位。

$$\text{PFP (U/g)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{提}} \times 10^9}{\epsilon \times d_1 \times V_{\text{样}} \times W \times T} = \frac{643.09 \times \Delta A}{W}$$

③按细菌或细胞数量计算

单位定义:每 10^4 个细菌或细胞每分钟消耗1 nmol NADH定义为一个酶活力单位。

$$\text{PFP (U/10}^4 \text{ cell)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{提}} \times 10^9}{\epsilon \times d_1 \times V_{\text{样}} \times \text{细菌或细胞数量} \times T} = \frac{643.09 \times \Delta A}{\text{细菌或细胞数量}}$$

④按液体样本体积计算

单位定义：每 mL 液体样本每分钟消耗 1 nmol NADH 定义为一个酶活力单位。

$$\text{PFP (U/mL)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times 10^9}{\epsilon \times d_1 \times V_{\text{样}} \times T} = 643.09 \times \Delta A$$

3.2 使用微量石英比色皿测定的计算公式

①按组织蛋白浓度计算

单位定义：每 mg 组织蛋白每分钟消耗 1 nmol NADH 定义为一个酶活力单位。

$$\text{PFP (U/mg prot)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times 10^9}{\epsilon \times d_2 \times V_{\text{样}} \times \text{Cpr} \times T} = \frac{321.54 \times \Delta A}{\text{Cpr}}$$

②按组织样本质量计算

单位定义：每 g 组织每分钟消耗 1 nmol NADH 定义为一个酶活力单位。

$$\text{PFP (U/g)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{提}} \times 10^9}{\epsilon \times d_2 \times V_{\text{样}} \times W \times T} = \frac{321.54 \times \Delta A}{W}$$

③按细菌或细胞数量计算

单位定义：每 10^4 个细菌或细胞每分钟消耗 1 nmol NADH 定义为一个酶活力单位。

$$\text{PFP (U/10}^4 \text{ cell)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{提}} \times 10^9}{\epsilon \times d_2 \times V_{\text{样}} \times \text{细菌或细胞数量} \times T} = \frac{321.54 \times \Delta A}{\text{细菌或细胞数量}}$$

④按液体样本体积计算

单位定义：每 mL 液体样本每分钟消耗 1 nmol NADH 定义为一个酶活力单位。

$$\text{PFP (U/mL)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times 10^9}{\epsilon \times d_2 \times V_{\text{样}} \times T} = 321.54 \times \Delta A$$

注释： V 反总：反应体系总体积， 2×10^{-4} L； ϵ ：NADH 摩尔消光系数， 6.22×10^3 L/mol/cm； d_1 ：96 孔 UV 板光径，0.5 cm； d_2 ：微量玻璃比色皿光径，1 cm；V 样：反应体系中加入粗酶液的体积，0.02 mL；V 提：粗酶液总体积，1 mL；T：反应时间，5 min；Cpr：样本蛋白浓度，mg/mL；W：样本质量，g；细菌或细胞数量：以万计； 10^9 ：单位换算系数，1 mol= 10^9 nmol。

四、注意事项

- ①准确在规定时间内完成吸光值测定，以确保实验结果的准确性和重复性；
- 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。

For Research Use Only. Not for Use in Diagnostic Procedures.

