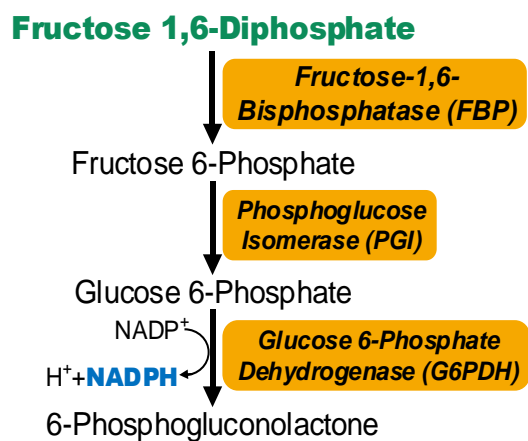




果糖-1,6-二磷酸酶 (FBP) / 果糖-1,6-二磷酸酯酶活性检测试剂盒
Fructose-1,6-Bisphosphatase (FBP) Activity Assay Kit



果糖-1,6-二磷酸酶 (FBP) /果糖-1,6-二磷酸酯酶活性检测试剂盒

Fructose-1,6-Bisphosphatase (FBP) Activity Assay Kit

一、产品描述

果糖-1,6-二磷酸酶 (FBP) 又称果糖-1,6-二磷酸酯酶, 可催化 1,6-二磷酸果糖生成 6-磷酸果糖和无机磷, 在糖异生过程和光合作用同化物蔗糖的合成中起关键性的作用。

果糖-1,6-二磷酸酶可催化 1,6-二磷酸果糖生成 6-磷酸果糖和无机磷, 进一步在磷酸葡萄糖异构酶和 6-磷酸葡萄糖脱氢酶催化作用下生成 6-磷酸葡萄糖酸和 NADPH, NADPH 在 340 nm 处具有特征吸收峰, 通过测定吸光值的增加速率即可表征果糖-1,6-二磷酸酶的活性。

二、产品内容

名称	试剂规格	储存条件	使用方法及注意事项
提取液	液体 110 mL×1 瓶	4°C 保存	-
试剂一	液体 8 μL×1 瓶	-20°C 保存	使用前加入 1100 μL 蒸馏水充分溶解 (可分装后-20°C 保存, 避免反复冻融)
试剂二	粉剂×2 支	-20°C 保存	使用前每支 770 μL 蒸馏水充分溶解 (可分装后-20°C 保存, 避免反复冻融)
试剂三	粉剂×1 瓶	2-8°C 保存	使用前加入 20 mL 试剂四充分溶解 (未使用完试剂及时置于 4°C 保存)
试剂四	液体 25 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、研钵/匀浆器、可调式移液器/多道移液器、台式离心机、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 8000 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) 处理样品, 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 8000 g 离心 10 min, 取上清置于冰上待测。

2. 测定步骤

- ① 紫外分光光度计/酶标仪预热 30 min 以上，调节波长至 340 nm，蒸馏水调零。
- ② 将试剂三置于 37°C（哺乳动物）或 25°C（其它物种）预热 10 min。
- ③ 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)	空白组 (μL)
粗酶液	20	-
提取液	-	20
试剂一	10	10
试剂二	10	10
试剂三	160	160

吸光值测定：①立即混匀并开始计时，测定 10 s（总时间）时 340 nm 处吸光值，记为 A1 测定和 A1 空白；②37°C（哺乳动物）或 25°C（其它物种）反应 300 s，测定 310 s（总时间）时 340 nm 处吸光值，记为 A2 测定和 A2 空白；计算 ΔA 测定 = A2 测定 - A1 测定， ΔA 空白 = A2 空白 - A1 空白， $\Delta A = \Delta A$ 测定 - ΔA 空白。注：空白组只需测定 1-2 次。

3. 果糖-1,6-二磷酸酶（FBP）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 组织蛋白每分钟生成 1 nmol NADH 定义为一个酶活力单位。

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

② 按组织样本质量计算

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

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

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生成 1 nmol NADH 定义为一个酶活力单位。

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

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 组织蛋白每分钟生成 1 nmol NADH 定义为一个酶活力单位。

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

②按组织样本质量计算

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

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

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生成 1 nmol NADH 定义为一个酶活力单位。

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

注释： V 反总：反应体系总体积， 2×10^{-4} L；V 样：反应体系中加入粗酶液的体积，0.02 mL；V 样总：粗酶液总体积，1 mL； 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 ：微量石英比色皿光径，1 cm；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；T：反应时间：5 min； 10^9 ：单位换算系数，1 mol = 10^9 nmol。

四、注意事项

- ①若 ΔA 大于 0.5 时（96 孔 UV 板 ΔA 大于 0.3 时），建议将粗酶液适当稀释后再进行测定，以提高检测灵敏，计算时相应修改；
- ②空白组为检测各试剂组分质量的检测孔，正常情况下变化不超过 0.02；
- ③准确在 10 s 和 310 s 时完成检测，若使用 96 孔 UV 板进行检测，应使用多道移液器且分批进行检测，以确保组间反应时间一致；
- ④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.

