



果糖-1,6-二磷酸 (FDP) 含量检测试剂盒

Fructose-1,6-Diphosphate (FDP) Content Assay Kit

Fructose-1.6-Diphosphate

Aldolase (ALD)

Dihydroxyacetone Phosphate

2,4-Dinitrophenylhydrazine

Phenylhydrazone

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



果糖-1,6-二磷酸 (FDP) 含量检测试剂盒

Fructose-1,6-Diphosphate (FDP) Content Assay Kit

一、产品描述

果糖-1,6-二磷酸是细胞内糖酵解的中间产物，作为机体内广泛存在的高能代谢物和代谢调控剂，可直接调节代谢或作为底物参与供能，对多种酶具有调节作用，具有改善细胞能量代谢、增强能量利用、抗心律失常及抗组织过氧化等作用，在临床医药领域具有重要应用。

醛缩酶 (Aldolase) 可催化果糖-1,6-二磷酸分解为 3-磷酸甘油醛和磷酸二羟丙酮，进一步与 2,4-二硝基苯肼反应生成 2,4-二硝基苯腙，产物在 540 nm 处具有特征吸收峰，通过吸光值变化即可定量检测果糖-1,6-二磷酸的含量。

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 A | 液体 30 mL×1 瓶 | 4°C 保存 | - |
| 提取液 B | 液体 5 mL×1 瓶 | 4°C 保存 | - |
| 试剂一 | 液体 20 mL×1 瓶 | 4°C 保存 | - |
| 试剂二 | 粉剂×1 支 | 4°C 避光保存 | 使用前加入 1 mL 蒸馏水充分溶解 (配制后 4°C 可保存一周) |
| 试剂三 | 液体 15 mL×1 瓶 | 4°C 避光保存 | - |
| 试剂四 | 液体 40 mL×1 瓶 | 4°C 保存 | - |
| 标准品 | 粉剂×1 支 | 4°C 避光保存 | 使用前加入 1176 μL 蒸馏水充分溶解 (即为 50 μmol/mL FDP 标准液) |
| 标准稀释液的制备：将 50 μmol/mL FDP 标准液用蒸馏水稀释为 1.5、1.0、0.8、0.4、0.2、0.1 μmol/mL 即为标准稀释液。 | | | |

三、产品使用说明

测定过程中所需要的仪器和试剂：可见分光光度计、1 mL 玻璃比色皿 (光径 10 mm)、研钵/匀浆器、可调式移液器、台式离心机、恒温水浴/培养箱和蒸馏水。

1. 样品处理（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 A 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 A）处理样品，冰浴匀浆，4°C 12000 g 离心 10 min，吸取 800 μL 上清液，加入 160 μL 提取液 B，4°C 12000 g 离心 10 min，取上清即为待测样本。

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 A 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 A）处理样品，冰浴超声破碎细菌或细胞（功率 300 W，超声 3 s，间隔 7 s，总时间 3 min），4°C 12000 g 离心 10 min，吸取 800 μL 上清液，加入 160 μL 提取液 B，4°C 12000 g 离心 10 min，取上清即为待测样本。

③血清（浆）、培养液等液体样本：取 100 μL 液体样本加入 1 mL 提取液 A，4°C 12000 g 离心 10 min，吸取 800 μL 上清液，加入 160 μL 提取液 B，4°C 12000 g 离心 10 min，取上清即为待测样本。

2. 测定步骤

①分光光度计预热 30 min 以上，调节波长至 540 nm，蒸馏水调零。

②在离心管中依次加入下列试剂：

| 试剂 | 测定管 (μL) | 对照管 (μL) | 标准管 (μL) | 空白管 (μL) |
|-----------------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| 待测样本 | 100 | 100 | - | - |
| 标准稀释液 | - | - | 100 | - |
| 蒸馏水 | - | - | - | 100 |
| 试剂一 | 200 | 220 | 200 | 220 |
| 试剂二 | 20 | - | 20 | - |
| 充分混匀，37°C 准确反应 2 h | | | | |
| 试剂三 | 200 | 200 | 200 | 200 |
| 充分混匀，37°C 准确反应 20 min | | | | |
| 试剂四 | 500 | 500 | 500 | 500 |
| 充分混匀，37°C 准确反应 10 min | | | | |

吸光值测定：吸取 1 mL 反应液至 1 mL 玻璃比色皿中，测定 540 nm 处吸光值，记为 A 测定、A 对照、A 标准和 A 空白；计算 $\Delta A_{测定} = A_{测定} - A_{对照}$ ， $\Delta A_{标准} = A_{标准} - A_{空白}$ 。注：空白管只需测定 1-2 次，每个样品均需设一个对照管。

标准曲线的建立：以 1.5、1.0、0.8、0.4、0.2、0.1 μmol/mL 为横坐标（x），其对应的 $\Delta A_{标准}$ 为纵坐标（y）绘制标准曲线，得到标准方程 $y = kx + b$ ，将 $\Delta A_{测定}$ 带入公式中得到 x（μmol/mL）。

3.果糖-1,6-二磷酸（FDP）含量计算

①按组织样本质量计算

$$\text{FDP } (\mu\text{g/g}) = \frac{x \times (V_{\text{上清}} + V_{\text{提 B}}) \times V_{\text{提 A}} \times M}{W \times V_{\text{上清}}} = \frac{408 \times x}{W}$$

②按照细菌或细胞数量计算

$$\text{FDP } (\mu\text{g}/10^4 \text{ cell}) = \frac{x \times (V_{\text{上清}} + V_{\text{提 B}}) \times V_{\text{提 A}} \times M}{\text{细菌或细胞数量} \times V_{\text{上清}}} = \frac{408 \times x}{\text{细菌或细胞数量}}$$

③按液体样本体积计算

$$\text{FDP } (\mu\text{mol/mL}) = \frac{x \times (V_{\text{上清}} + V_{\text{提 B}}) \times (V_{\text{提 A}} + V_{\text{液体}})}{V_{\text{液体}} \times V_{\text{上清}}} = 13.2 \times x$$

注释： V 提 A：提取过程中加入提取液 A 的体积，1 mL；V 上清：提取过程中加入上清液的体积，0.8 mL；V 提 B：提取过程中加入提取液 B 的体积，0.16 mL；V 液体：液体样本体积，0.1 mL；W：样本质量，g；细菌或细胞数量：以万计；M：果糖-1,6-二磷酸分子质量，340。

四、注意事项

①若测定吸光值超出标准吸光值线性范围：高于最高值建议将待测样本使用蒸馏水适当稀释后再进行测定，低于最低值建议适当增加样本量后再进行测定，计算时相应修改；

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.

boxbio

Manufactured and Distributed by

Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.
Liandong U Valley, Tongzhou District, Beijing, China

TEL: 400-805-8228

E-MAIL: techsupport@boxbio.cn

Copyright © 2020 Boxbio, All Rights Reserved.

