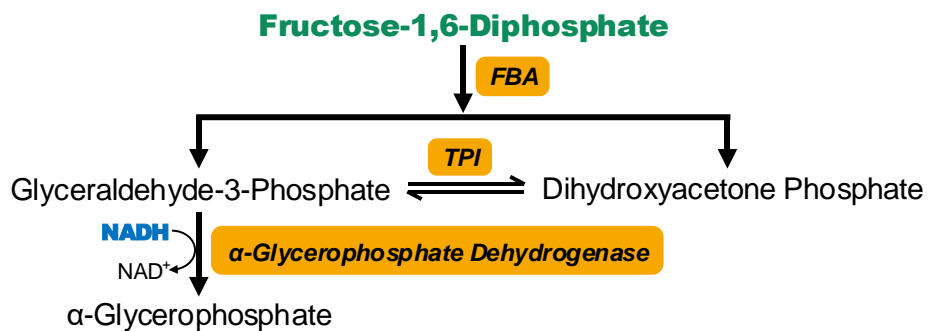




果糖-1,6-二磷酸 (FDP) 含量检测试剂盒

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



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，在磷酸丙糖异构酶和 α -磷酸甘油脱氢酶作用下催化 NADH 和磷酸二羟丙酮生成 NAD 和 α -磷酸甘油，NADH 在 340 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 110 mL×1 瓶 | 4°C 保存 | - |
| 提取液 B | 液体 20 mL×1 瓶 | 4°C 保存 | - |
| 试剂一 | 液体 12 mL×1 瓶 | -20°C 保存 | - |
| 试剂二 | 粉剂×1 瓶 | -20°C 保存 | 使用前加入 4 mL 蒸馏水充分溶解 (分装后-20°C可保存 1 个月，避免反复冻融) |
| 试剂三 | 液体 14 μ L×1 瓶 | 4°C 保存 | 使用前加入 2.5 mL 蒸馏水充分混匀 (分装后-20°C可保存 1 个月，避免反复冻融) |
| 试剂四 | 液体 100 μ L×1 瓶 | 4°C 保存 | 使用前加入 2.5 mL 蒸馏水充分混匀 (分装后-20°C可保存 1 个月，避免反复冻融) |
| 试剂五 | 液体 20 μ L×1 瓶 | 4°C 保存 | 使用前加入 620 μ L 蒸馏水充分混匀 (分装后-20°C可保存 1 个月，避免反复冻融) |
| 标准品 | 粉剂×1 支 | 4°C 保存 | 使用前加入 1176 μ L 蒸馏水充分溶解 (即为 50 μ mol/mL FDP 标准液) |
| 标准稀释液的制备 (现用现配): 将 50 μ mol/mL FDP 标准液使用蒸馏水稀释至 0.8、0.4、0.2、0.1、0.05、0.025 μ mol/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：酶标仪、96孔UV板、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. 样本处理（可根据预实验结果适当调整样品量及比例）

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 上清液至离心管中，加入 150 μL 提取液 B 充分混匀至无气泡产生，4°C 12000 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（10⁴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 上清液至离心管中，加入 150 μL 提取液 B 充分混匀至无气泡产生，4°C 12000 g 离心 10 min，取上清置于冰上待测。

③血清（浆）、培养液等液体样本：吸取 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 上清液至离心管中，加入 150 μL 提取液 B 充分混匀至无气泡产生，4°C 12000 g 离心 10 min，取上清置于冰上待测。

注：提取液 B 加入后会产生大量气泡，应缓慢加入并吹打混匀至无气泡产生，建议使用 2 mL 离心管。

2. 测定步骤

①酶标仪预热 30 min 以上，调节波长至 340 nm。

②**标准稀释液的制备（现用现配）：**使用前将 50 μmol/mL FDP 标准液使用蒸馏水稀释至 0.8、0.4、0.2、0.1、0.05、0.025 μmol/mL 即为标准稀释液。

| 序号 | A | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |
|----------------|-----|-----|-----|-----|-----|------|-------|
| 稀释前浓度（μmol/mL） | 50 | 5 | 0.8 | 0.4 | 0.2 | 0.1 | 0.05 |
| 标准液体积（μL） | 100 | 160 | 500 | 500 | 500 | 500 | 500 |
| 蒸馏水体积（μL） | 900 | 940 | 500 | 500 | 500 | 500 | 500 |
| 稀释后浓度（μmol/mL） | 5.0 | 0.8 | 0.4 | 0.2 | 0.1 | 0.05 | 0.025 |

③试验前将试剂一 37°C 预热 30 min 以上。

④在 96 孔板中依次加入下列试剂：

| 试剂 | 测定组 (μL) | 标准组 (μL) | 空白组 (μL) |
|-------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
| 待测样本 | 50 | - | - |
| 标准稀释液 | - | 50 | - |
| 蒸馏水 | - | - | 50 |
| 试剂一 | 85 | 85 | 85 |
| 试剂二 | 20 | 20 | 20 |
| 试剂三 | 20 | 20 | 20 |
| 试剂四 | 20 | 20 | 20 |
| 试剂五 | 5 | 5 | 5 |

吸光值测定：①充分混匀并立即开始计时，测定 10 s（总时间）时 340 nm 处吸光值，记为 A1 测定、A1 标准和 A1 空白；②37°C（哺乳动物）或 25°C（其他物种）准确反应 600 s 后，测定 610 s（总时间）时 340 nm 处吸光值，记为 A2 测定、A2 标准和 A2 空白；③计算 A 测定=A2 测定-A1 测定，A 标准=A2 标准-A1 标准，A 空白=A2 空白-A1 空白， ΔA 测定=A 测定-A 空白， ΔA 标准=A 标准-A 空白。注：各浓度标准组和空白组只需测定 1-2 次。

标准曲线的建立：以 0.8、0.4、0.2、0.1、0.05、0.025 $\mu\text{mol}/\text{mL}$ 为横坐标 (x)，以其对应的 ΔA 标准为纵坐标 (y) 绘制标准曲线，得到标准方程 $y=kx+b$ ，将 ΔA 测定带入公式中得到 x ($\mu\text{mol}/\text{mL}$)。

3.果糖-1,6-二磷酸 (FDP) 含量计算

①按组织蛋白含量计算

$$\text{FDP } (\mu\text{mol}/\text{mg prot}) = \frac{x \times (V_{\text{上清}} + V_{\text{提 B}}) \times V_{\text{提 A}}}{\text{Cpr} \times W \times V_{\text{上清}}} = \frac{1.1875 \times x}{\text{Cpr} \times W}$$

②按组织样本质量计算

$$\text{FDP 含量 } (\mu\text{mol}/\text{g}) = \frac{x \times (V_{\text{上清}} + V_{\text{提 B}}) \times V_{\text{提 A}}}{W \times V_{\text{上清}}} = \frac{1.1875 \times x}{W}$$

③按细菌或细胞数量计算

$$\text{FDP 含量 } (\mu\text{mol}/10^4 \text{ cell}) = \frac{x \times (V_{\text{上清}} + V_{\text{提 B}}) \times V_{\text{提 A}}}{\text{细菌或细胞数量} \times V_{\text{上清}}} = \frac{1.1875 \times x}{\text{细菌或细胞数量}}$$

④按液体样本体积计算

$$\text{FDP 含量 } (\mu\text{mol/mL}) = \frac{x \times (V_{\text{上清}} + V_{\text{提 B}}) \times (V_{\text{液}} + V_{\text{提 A}})}{V_{\text{液}} \times V_{\text{上清}}} = 13.0625 \times x$$

注释： V 提 A：提取过程中加入提取液 A 的体积，1 mL；V 上清：提取过程中吸取上清液的体积，0.8 mL；V 提 B：提取过程中加入提取液 B 的体积，0.15 mL；V 液：提取过程中加入液体样本的体积，0.1 mL；Cpr：样本蛋白含量，mg/g；W：样本质量，g；细菌或细胞数量：以万计。

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.

Notes:

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.

