

果糖-1,6-二磷酸 (FDP) 检测试剂盒 (微量法)

产品货号: BA1138

产品规格: 100管/48样

产品简介:

果糖1,6-二磷酸 (fructose-1,6-diphosphate, FDP) 是糖酵解过程中的一种重要的中间产物, 对多种酶具有调节作用, 具有改善细胞能量代谢、增加能量利用、抗心律失常及抗组织过氧化等作用, 广泛应用于临床医药。

醛缩酶催化果糖1,6-二磷酸裂解, 产物与2,4-二硝基苯肼在酸性介质中反应生成2,4-二硝基苯腙, 在碱性溶液中呈红棕色, 在540nm处有特征吸收峰。

注意: 实验之前建议选择2-3个预期差异大的样本做预实验。如果样本吸光值不在测量范围内建议稀释或者增加样本量进行检测。

产品组成:

试剂名称	规格	保存条件
提取液一	液体60mL×1瓶	2-8℃
提取液二	液体10mL×1瓶	2-8℃
试剂一	液体10mL×1瓶	2-8℃
试剂二	粉剂×1支	2-8℃
试剂三	液体7mL×1瓶	2-8℃
试剂四	液体20mL×1瓶	2-8℃
标准品	粉剂×1支	2-8℃

溶液的配制:

1. 试剂二: 临用前加入300 μ L蒸馏水, 充分溶解后待用, 用不完的试剂4℃保存, 4℃保存一周;
2. 标准品: 临用前加入1176 μ L蒸馏水充分溶解, 配制成50 μ mol/mL果糖-1,6-二磷酸标准溶液。

试验中所需的仪器和试剂:

可见分光光度计/酶标仪、低温台式离心机、水浴锅/恒温培养箱、微量玻璃比色皿/96孔板、可调式移液枪、研钵/匀浆器、冰 和蒸馏水、EP管。

操作步骤 (仅供参考):

一、样品处理 (可适当调整待测样本量, 具体比例可以参考文献)

1. 组织: 按照质量 (g): 提取液一体积(mL)为 1: 5~10 的比例 (建议称取约 0.1g, 加入 1mL 提取液一) 加入提取液一, 冰浴匀浆后于 4℃, 12000g 离心 10min, 取 0.8mL 上清液, 再加入 0.16mL 提取液二, 4℃, 12000g 离心 10min 后取上清待测。
2. 细胞: 按照细胞数量 (10^4 个): 提取液一体积 (mL) 为 500~1000: 1 的比例 (建议 500 万细胞加入 1mL 提取液一) 加入提取液一, 冰浴超声波破碎细胞 (功率 300w, 超声 3 秒, 间隔 7 秒, 总时间 3min); 于 4℃, 12000g 离心 10min, 取 0.8mL 上清液, 再加入 0.16mL 提取液二, 4℃, 12000g 离心 10min 后取上清待测。
3. 血清 (浆): 取 100 μ L 血清 (浆) 加入 1mL 提取液一, 4℃, 12000g 离心 10min, 取 0.8mL 上清液, 再加入 0.16mL 提取液二, 4℃, 12000g 离心 10min 后取上清待测。



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司
Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址: 上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话: 400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱: saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com

二、测定步骤

1. 分光光度计/酶标仪预热 30min 以上，调节波长至 540nm，蒸馏水调零。
2. 将 50 μ mol/mL 的果糖-1,6-二磷酸标准液用蒸馏水倍比稀释为 3.125、1.5625、0.78125、0.39、0.2、0.1 μ mol/mL 的标准溶液备用。
3. 样本测定：(在 1.5 mL 离心管中操作)

试剂名称 (μ L)	对照管	测定管	空白管	标准管
样本	20	20	-	-
蒸馏水	-	-	20	-
标准溶液	-	-	-	20
试剂一	44	40	44	40
试剂二	-	4	-	4
充分混匀，37 $^{\circ}$ C 准确反应 2 h				
试剂三	40	40	40	40
充分混匀，37 $^{\circ}$ C 准确反应 20 min				
试剂四	100	100	100	100
充分混匀，37 $^{\circ}$ C 准确反应 10 min				
于微量玻璃比色皿/96 孔板中测定 540nm 处吸光值 A，分别记为 A 对照管、A 测定管、A 空白管和 A 标准管。计算 $\Delta A = A$ 测定管 - A 对照管， ΔA 标准 = A 标准管 - A 空白管。(空白管只需检测 1-2 次)。				

三、FDA 含量计算

1. 标准曲线的绘制：

以各个标准溶液的浓度为 x 轴，其对应的 ΔA 标准为 y 轴，绘制标准曲线，得到标准方程 $y = kx + b$ ，将 ΔA 带入方程得到 x (μ mol/mL)。

2. FDP 含量的计算：

- (1) 按样本质量计算

$$\text{FDP 含量 } (\mu\text{g/g 质量}) = x \times (V_{\text{上清}} + V_{\text{提取液二}}) \times M \div (W \times V_{\text{上清}} \div V_{\text{提取液一}}) = 408x \div W$$

- (2) 按细胞数量计算

FDP 含量 ($\mu\text{g}/10^4\text{cell}$) = $x \times (V_{\text{上清}} + V_{\text{提取液二}}) \times M \div (V_{\text{上清}} \div V_{\text{提取液一}} \times \text{细胞数量(万个)}) = 408x \div \text{细胞数量(万个)}$

- (3) 按液体体积计算

$$\text{FDP 含量 } (\mu\text{mol/mL}) = x \times (V_{\text{上清}} + V_{\text{提取液二}}) \div [V_{\text{液体}} \times V_{\text{上清}} \div (V_{\text{提取液一}} + V_{\text{液体}})] = 13.2x$$

V 上清：提取时上清液体积，0.8mL；V 提取液二：提取液二的体积，0.16mL；V 提取液一：提取液一的体积，1mL；W：样本质量，g；M：果糖-1,6-二磷酸分子质量，340；V 液体：液体样本体积，0.1mL。

注意事项：

1. 当 ΔA 测定大于 0.5 时，建议将样本用蒸馏水稀释后再进行测定，计算公式中乘以稀释倍数。



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司
 Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话：400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱：saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com