

果糖-1,6-二磷酸酶（FBP）检测试剂盒（微量法）

产品货号：BA1142

产品规格：100管/96样

产品简介：

果糖-1,6-二磷酸酶（Fructose 1,6-bisphosphatase, FBP）又称果糖-1,6-二磷酸酯酶，其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。催化1,6-二磷酸果糖和水生成6-磷酸果糖和无机磷。

FBP催化1,6-二磷酸果糖和水，生成6-磷酸果糖和无机磷，在反应体系中添加的磷酸葡萄糖异构酶和6-磷酸葡萄糖脱氢酶依次催化生成6-磷酸葡萄糖酸和NADPH，测定340nm下NADPH的增加速率，即可计算FBP活性。

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	液体100mL×1瓶	2-8℃
试剂一	粉剂×1瓶	2-8℃
试剂二	液体8μL×1瓶	-20℃
试剂三	液体108μL×1瓶	-20℃
试剂四	液体25mL×1瓶	2-8℃

溶液的配制：

1. 试剂一：临用前加入20mL试剂四充分溶解待用，用不完的试剂于4℃保存。
2. 试剂二：液体置于试剂瓶内EP管中。临用前加入1.1mL蒸馏水充分溶解待用，用不完的试剂分装后-20℃保存，避免反复冻融。
3. 试剂三：液体置于试剂瓶内EP管中。临用前加入1.1mL蒸馏水充分溶解待用，用不完的试剂分装后-20℃保存，避免反复冻融。

试验中所需的仪器和试剂：

紫外分光光度计/酶标仪、天平、低温离心机、微量石英比色皿/96孔UV板、可调式移液枪、研钵/匀浆器、冰盒、蒸馏水。

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）：提取液体积（mL）为 1：5~10 的比例（建议称取约 0.1g，加入 1mL 提取液）进行冰浴匀浆。于 4℃，8000g，离心 10min，取上清，置冰上待测。
2. 细胞：按照细胞数量（ 10^4 个）：提取液体积（mL）为 500~1000：1 的比例（建议 500 万细胞加入 1mL 提取液），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℃，8000g，离心 10min，取上清，置冰上待测。

二、测定步骤

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



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

- 将试剂一 37℃(哺乳动物)或 25℃(其它物种)预热 10min。
- 操作表: (在微量石英比色皿/96 孔 UV 板中依次加入下列试剂)。

试剂名称 (μL)	测定管	空白管
样本	20	-
提取液	-	20
试剂二	10	10
试剂三	10	10
试剂一	160	160

在微量石英比色皿/96 孔 UV 板中分别加入上述试剂,充分混匀后于 340nm 处测定 10s 时的吸光值 A1,迅速置于 37℃(哺乳动物)或 25℃(其它物种)水浴或培养箱 5min (酶标仪有控温功能可直接调节温度),拿出迅速擦干测定 310s 时的吸光值 A2,计算 ΔA 测定管=A2 测定-A1 测定, ΔA 空白管=A2 空白-A1 空白, $\Delta A = \Delta A$ 测定管 - ΔA 空白管。(空白管只需做 1-2 次)

三、FBP 含量计算

A 按微量石英比色皿计算

- 按蛋白浓度计算

单位的定义: 每 mg 组织蛋白每分钟生成 1nmol 的 NADPH 定义为一个酶活力单位。

$$\text{FBP (U/mg prot)} = \Delta A \div (\epsilon \times d) \times 10^9 \times V \text{ 反总} \div (\text{Cpr} \times V \text{ 样}) \div T = 321.5 \times \Delta A \div \text{Cpr}$$

- 按样本质量计算

单位的定义: 每 g 组织每分钟生成 1nmol 的 NADPH 定义为一个酶活力单位。

$$\text{FBP (U/g 质量)} = \Delta A \div (\epsilon \times d) \times 10^9 \times V \text{ 反总} \div (W \times V \text{ 样} \div V \text{ 样总}) \div T = 321.5 \times \Delta A \div W$$

- 按细菌或细胞密度计算

单位的定义: 每 10^4 个细菌或细胞每分钟生成 1nmol 的 NADPH 定义为一个酶活力单位。

$$\begin{aligned} \text{FBP (U}/10^4\text{cell)} &= \Delta A \div (\epsilon \times d) \times 10^9 \times V \text{ 反总} \div (V \text{ 样} \div V \text{ 样总} \times \text{细胞数量 (万个)}) \div T \\ &= 321.5 \times \Delta A \div \text{细胞数量 (万个)} \end{aligned}$$

V 反总: 反应体系总体积, 2×10^{-4} L; ϵ : NADPH 摩尔消光系数, 6.22×10^3 L/mol/cm; d: 比色皿光径, 1cm; V 样: 加入样本体积, 0.02mL; V 样总: 加入提取液体积, 1mL; T: 反应时间, 5min; Cpr: 样本蛋白质浓度, mg/mL; W: 样本质量, g; 10^9 : 单位换算系数, $1\text{mol} = 10^9\text{nmol}$ 。

B 按 96 孔板计算

将上述公式中的 d-1cm 改为 d-0.6cm (96 孔 UV 板光径) 进行计算即可

注意事项:

- 当 ΔA 大于 0.6 时, 建议将样本稀释后再进行测量。
- 空白管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。



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