

## 果糖-1,6-二磷酸酶(FBP)试剂盒(可见显色法)(微板法)

产品货号: BA3370

产品规格: 96样

### 指标介绍:

果糖-1,6二磷酸酶又称果糖1,6二磷酸酯酶(FBP, EC 3.1.3.11), 是糖异生途径中的关键酶, 不同糖异生底物在多种酶的作用下转化为1,6二磷酸果糖, 之后在FBP催化下水解为6磷酸果糖和无机磷, 该酶的异常表达与某些疾病有密切关系。

本试剂盒提供一种简单, 灵敏, 快速的测定方法: FBP催化1,6二磷酸果糖和水生成6磷酸果糖和无机磷, 与酶促复合物相互作用, 该过程中产生的NADPH紧接着与特异的显色探针反应生成有色物质, 通过检测该有色物质的增加速率, 进而计算出FBP酶活性大小。

### 试剂组成和配制:

试剂名称	规格	保存要求	备注
提取液	液体100mL×1瓶	2-8°C	
试剂一	粉剂1支	2-8°C	1. 临用前8000g 4°C离心2min使试剂落入管底(可手动甩一甩); 2. 加入1.1mL蒸馏水溶解备用; 3. 保存周期与试剂盒有效期相同。
试剂二	粉剂1支	-20°C	1. 临用前8000g 4°C离心2min使试剂落入管底(可手动甩一甩); 2. 加入1.1mL蒸馏水溶解备用; 3. 溶解好的试剂可-20°C分装冻存。
试剂三	液体1mL×1支	2-8°C, 避光	
试剂四	液体20mL×1瓶	2-8°C	
试剂五	粉剂1瓶	2-8°C	1. 开盖前注意使粉剂落入底部(可手动甩一甩); 2. 加入2.1mL蒸馏水溶解备用; 3. 保存周期与试剂盒有效期相同。
标准品	粉剂1支	2-8°C	1. 若重新做标曲, 则用到该试剂; 2. 按照说明书中标曲制作步骤进行配制; 3. 溶解后的标品一周内用完。

### 实验器材:

研钵(匀浆机)、冰盒(制冰机)、台式离心机、可调式移液枪、水浴锅(烘箱、培养箱、金属浴)、96孔板、离心管、酶标仪、蒸馏水(去离子水、超纯水均可)。

### 指标测定:

建议先选取1-3个差异大的样本(例如不同类型或分组)进行预实验, 熟悉操作流程, 根据预实验结果确定或调整样本浓度, 以防造成样本或试剂不必要的浪费!

#### 1. 样本提取:

##### ① 组织样本:

称取0.1样本, 加入1mL提取液进行冰浴匀浆, 于4°C, 12000rpm离心10min, 取上清液测定。

**【注】:** 若增加样本量, 可按照组织质量(g): 提取液体积(mL)为1: 5~10的比例进行提取。



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

② 细菌/细胞样本:

先收集细菌或细胞到离心管内，离心后弃上清；取 500 万细菌或细胞加入 1mL 提取液，在 4℃ 或冰浴进行匀浆(或使用各类常见电动匀浆器)。4℃ 约 12,000rpm 离心 10min，取上清待测。

**【注】**：若增加样本量，可按照细菌/细胞数量( $10^4$ ): 提取液(mL)为 500~1000: 1 的比例进行提取。

2. 检测步骤:

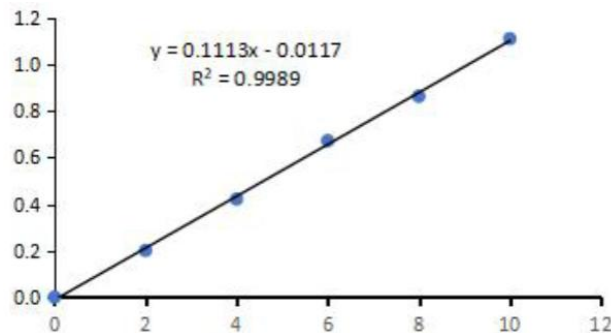
- ① 酶标仪预热 30min 以上，调节波长至 450nm，设置温度 25℃。
- ② 试剂解冻至室温 (25℃) 或水浴锅 (25℃) 孵育 15-30min。
- ③ 在 96 孔板中依次加入:

试剂名称 (μL)	测定管
样本	10
试剂一	10
试剂二	10
试剂三	10
试剂四	140
轻轻混匀，室温 (25℃) 孵育 5min	
试剂五	20
混匀，于 450nm 处测定，1min 时读取 A1，15min 后读取 A2， $\Delta A = A2 - A1$ 。	

**【注】**若  $\Delta A$  小于 0.01，可延长反应时间 T (如增至 25min 后重新读取 A2)，或增加 V1 (如增至 50μL，则试剂四相应减少)，则改变后的 T 和 V1 需重新代入公式计算。

**结果计算:**

1. 标准曲线方程:  $y = 0.1113x - 0.0117$ , x 是标准品摩尔质量 (nmol), y 是  $\Delta A$ 。



2. 按样本蛋白浓度计算:

酶活定义: 每毫克组织蛋白每分钟催化产生 1nmol NADPH 定义为一个酶活性单位。

$$FBP(\text{nmol}/\text{min}/\text{mg prot}) = [(\Delta A + 0.0117) \div 0.1113] \div (V1 \times Cpr) \div T = 59.9 \times (\Delta A + 0.0117) \div Cpr$$

3. 按照样本鲜重计算:

酶活定义: 每克组织每分钟催化产生 1nmol NADPH 定义为一个酶活力单位。

$$FBP(\text{nmol}/\text{min}/\text{g 鲜重}) = [(\Delta A + 0.0117) \div 0.1113] \div (W \times V1 \div V) \div T = 59.9 \times (\Delta A + 0.0117) \div W$$

4. 按细胞数量计算:

酶活定义: 每  $10^4$  个细胞每分钟催化产生 1nmol NADPH 定义为一个酶活力单位。

$$FBP(\text{nmol}/\text{min}/10^4 \text{ cell}) = [(\Delta A + 0.0117) \div 0.1113] \div (W \times V1 \div V) \div T = 59.9 \times (\Delta A + 0.0117) \div 500$$

V---加入提取液体积, 1mL; V1---加入样本体积, 0.01mL;



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

T---反应时间, 15min; W---样本质量, g; 500---细胞数量, 万;  
 Cpr---样本蛋白质浓度, mg/mL; 建议使用本公司的BCA蛋白含量检测试剂盒。

**附：标准曲线制作过程：**

1. 向标准品 EP 管里面加入 0.6mL 蒸馏水（母液需在两天内用且-20°C 保存），标准品母液浓度为 1nmol/μL。将母液用蒸馏水稀释成六个浓度梯度的标准品，例如：0, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1nmol/μL。也可根据实际样本调整标准品浓度。

2. 标品稀释参照表如下：

标品浓度 nmol/μL	0	0.2	0.4	0.6	0.8	1
标品稀释液 μL	0	40	80	120	160	200
水 μL	200	160	120	80	40	0
各标准管混匀待用。						

3. 依据加样表操作，根据结果，以各浓度吸光值减去 0 浓度吸光值，过 0 点制作标准曲线。

试剂名称 (μL)	标准管	0 浓度管 (仅做一次)
标品	10	
蒸馏水		10
试剂三	10	10
蒸馏水	40	40
试剂四	140	140
混匀，450nm 读取吸光值 A， $\Delta A = A$ 测定-0 浓度管。		



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