

果糖-1, 6-二磷酸酶 (FBP)/果糖-1, 6-二磷酸酯酶检测试剂盒 (NADPH 速率法/微量法)

货号: PMK1235

保存: -20℃避光保存 12 个月

规格: 48T/96T

适用样本: 动植物组织、细胞、真菌、细菌

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, 催化 1,6 二磷酸果糖和水生成 6 磷酸果糖和无机磷, 在糖的异生代谢和光合作用同化物蔗糖的合成中起关键性的作用。本试剂盒提供了一种简单的检测方法, 用于检测生物样本中 FBP 的活性。其原理是 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。

产品内容

试剂盒组分	规格		储存条件
	48T	96T	
提取液	50mL	100mL	4℃ 保存
试剂一	粉剂×1 瓶	粉剂×1 瓶	-20℃ 保存
试剂二	6 μ L	12 μ L	-20℃ 保存
试剂三	8 μ L	16 μ L	-20℃ 保存
试剂四	12.5mL	25mL	4℃ 保存

自备耗材

酶标仪或紫外分光光度计 (能测 340nm 处的吸光度) 及恒温箱

96 孔 UV 板或微量石英比色皿、可调节式移液枪及枪头

低温离心机、制冰机

去离子水

匀浆器 (如果是组织样本)

试剂准备

注意: 小管试剂开盖前, 请先低速离心。

提取液: 即用型; 4℃ 保存。

试剂一: 临用前 48T 加入 10mL 试剂四, 96T 加入 20mL 试剂四, 充分溶解待用, 用不完的试剂分装后-20℃ 保存, 避免反复冻融。

试剂二: 临用前 48T 加入 0.5mL 去离子水, 96T 加入 1mL 去离子水充分溶解待用, 用不完的试剂分装后-20℃ 保存, 避免反复冻融。

试剂三: 临用前 48T 加入 0.5mL 去离子水, 96T 加入 1mL 去离子水充分溶解待用, 用不完的试剂分装后-20℃ 保存, 避免反复冻融。

试剂四: 即用型; 使用前, 平衡到室温; 4℃ 保存。

样本制备

动植物组织: 称取约 0.1g 样本, 加入 1mL 提取液, 冰浴匀浆。8,000g, 4℃ 离心 10min, 取上清液, 置冰上待测。

产品说明书

细胞或细菌：收集 500 万细胞或细菌到离心管内，用冷 PBS 清洗细胞或细菌，离心后弃上清，加入 1mL 提取液，冰浴超声波破碎细胞或细菌 5min（功率 20%或 200W，超声 3s，间隔 7s，重复 30 次），然后 8,000g，4℃离心 10min，取上清液，置冰上待测。

注意：推荐使用新鲜样本，如果不立即进行实验，样本可在-80℃保存 1 个月。如需测定蛋白浓度，推荐使用 Bradford 法蛋白质定量试剂盒进行样本蛋白质浓度测定。

实验步骤

1. 酶标仪或紫外分光光度计预热 30min 以上，调节波长至 340nm，紫外分光光度计去离子水调零。
2. 根据样本量取部分试剂一 37℃(哺乳动物)或 25℃(其它物种)预热 10 分钟。
3. 样本测定：在 96 孔 UV 微孔板或微量石英比色皿中加入 20 μL 样本、10 μL 试剂二、10 μL 试剂三和 160 μL 试剂一，立即混匀。记录 340nm 处 1min 后吸光值 A_1 和 6min 后的吸光值 A_2 ，计算 $\Delta A = A_2 - A_1$ 。

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 ΔA 小于 0.001 可适当加大样本量。如果 ΔA 大于 0.6，样本可用提取液进一步稀释，计算结果乘以稀释倍数。

结果计算

A. 使用 96 孔 UV 板测定的计算公式如下

1. 按样本鲜重计算：

单位的定义：每 g 组织在反应体系中每分钟生成 1nmol 的 NADPH 定义为一个酶活力单位。

$$FBP(U/g \text{ 鲜重}) = [\Delta A \times V_{\text{反应}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times W) \div T = 643 \times \Delta A \div W$$

2. 按液体样本体积计算：

单位的定义：每 mL 液体样本在反应体系中每分钟生成 1nmol 的 NADPH 定义为一个酶活力单位。

$$FBP(U/mL) = [\Delta A \times V_{\text{反应}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div V_{\text{样}} \div T = 643 \times \Delta A$$

3. 按细菌或细胞数量计算：

单位的定义：每 10^4 个细菌或细胞在反应体系中每分钟生成 1nmol 的 NADPH 定义为一个酶活力单位。

$$FBP(U/10^4 \text{ Cells}) = [\Delta A \times V_{\text{反应}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times 500) \div T = 643 \times \Delta A \div 500 = 1.286 \times \Delta A$$

4. 按样本蛋白浓度计算：

单位的定义：每 mg 组织蛋白在反应体系中每分钟生成 1nmol 的 NADPH 定义为一个酶活力单位。

$$FBP(U/mg \text{ prot}) = [\Delta A \times V_{\text{反应}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (Cpr \times V_{\text{样}}) \div T = 643 \times \Delta A \div Cpr$$

$V_{\text{反应}}$ ：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 ：96 孔板光径，0.5cm； 10^9 ：1mol=1×10⁹ nmol； $V_{\text{样}}$ ：加入样本体积，0.02mL； $V_{\text{样总}}$ ：加入提取液体积，1mL； T ：反应时间，5min； W ：样品质量，g； Cpr ：样本蛋白质浓度，mg/mL；500：细菌或细胞总数， 5×10^6 。

B. 使用微量石英比色皿测定的计算公式

将上述计算公式中光径 d ：0.5cm 调整为 d ：1cm 进行计算即可。

注意事项

1. 实验过程中请穿戴实验服、口罩和乳胶手套。请按照生物实验室的国家安全规定进行实验，尤其是在检测血样或其他体液时。
2. 本试剂盒仅用于实验室科学研究，如果本试剂盒用于临床诊断或任何其他用途，我们将不对任何后果负责。
3. 本试剂盒应在有效期内使用，并请严格按照说明书进行存储。
4. 不同批次号、不同厂家之间的组分不要混用；否则，可能导致结果异常。
5. 勤换吸头，避免各组分之间的交叉污染。

相关产品：

- PMK1233 磷酸烯醇式丙酮酸羧激酶 (PEPCK) 检测试剂盒 (微量法)
- PMK1234 葡萄糖-6-磷酸酶 (G6P) 检测试剂盒 (NADH 速率法/微量法)
- PMK1235 果糖-1,6-二磷酸酶 (FBP)/果糖-1,6-二磷酸酯酶检测试剂盒 (NADPH 速率法)
- PMK1236 丙酮酸羧化酶 (PC) 检测试剂盒 (NADH 速率法)
- PMK1885 丙酮酸羧化酶 (PC) 检测试剂盒 (微量法)

更多产品详情了解，请关注公众号：

