

## 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。
2. 将试剂一 37℃(哺乳动物)或 25℃(其它物种)预热 10min。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址: 郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话: 400-611-0007 13671551480 13643719799

QQ: 807961520 731791866

邮箱: zzlybio@126.com

3. 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°C(哺乳动物)或25°C(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 $\Delta A_{测定管}=A2_{测定}-A1_{测定}$ ,  $\Delta A_{空白管}=A2_{空白}-A1_{空白}$ ,  $\Delta A=\Delta A_{测定管}-\Delta A_{空白管}$ 。(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

1. 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。

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

2. 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。

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

3. 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。

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

V反总: 反应体系总体积,  $2 \times 10^{-4}L$ ;  $\epsilon$ : NADPH摩尔消光系数,  $6.22 \times 10^3L/mol/cm$ ; 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,  $1mol=10^9nmol$ 。

#### 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:

1. 当 $\Delta A$ 大于0.6时, 建议将样本稀释后再进行测量。
2. 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

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址: 郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话: 400-611-0007 13671551480 13643719799

QQ: 807961520 731791866

邮箱: zzlybio@126.com