

果糖-1,6-二磷酸 (FDP) 检测试剂盒 (可见分光光度法)

产品货号: BA1137

产品规格: 50管/24样

产品说明:

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30mL×1瓶 | 2-8℃ |
| 提取液二 | 液体5mL×1瓶 | 2-8℃ |
| 试剂一 | 液体20mL×1瓶 | 2-8℃ |
| 试剂二 | 粉剂×1支 | 2-8℃ |
| 试剂三 | 液体15mL×1瓶 | 2-8℃ |
| 试剂四 | 液体40mL×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1mL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 μL蒸馏水充分溶解, 配制成50 μmol/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、低温台式离心机、水浴锅/恒温培养箱、1mL玻璃比色皿、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 μL 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。

二、测定步骤

1. 分光光度计预热 30min 以上, 调节波长至 540nm, 蒸馏水调零。



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

Q Q: 807961520 731791866

邮箱: zzlybio@126.com

- 将 50 $\mu\text{mol/mL}$ 的果糖-1,6-二磷酸标准液用蒸馏水倍比稀释为 1.5625、0.78125、0.39、0.2、0.1 $\mu\text{mol/mL}$ 的标准溶液备用。
- 样本测定：(在 1.5 mL 离心管中操作)

| 试剂名称 (μL) | 对照管 | 测定管 | 空白管 | 标准管 |
|--|-----|-----|-----|-----|
| 样本 | 100 | 100 | - | - |
| 蒸馏水 | - | - | 100 | - |
| 标准溶液 | - | - | - | 100 |
| 试剂一 | 200 | 200 | 200 | 200 |
| 试剂二 | - | 20 | - | 20 |
| 充分混匀, 37 $^{\circ}\text{C}$ 准确反应 2 h | | | | |
| 试剂三 | 200 | 200 | 200 | 200 |
| 充分混匀, 37 $^{\circ}\text{C}$ 准确反应 20 min | | | | |
| 试剂四 | 500 | 500 | 500 | 500 |
| 充分混匀, 37 $^{\circ}\text{C}$ 准确反应 10 min | | | | |
| 1mL 玻璃比色皿中测定 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 $\Delta A = A \text{ 测定管} - A \text{ 对照管}$, $\Delta A \text{ 标准} = A \text{ 标准管} - A \text{ 空白管}$ 。(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 ($\mu\text{mol/mL}$)。

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:

- 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

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

Q Q: 807961520 731791866

邮箱: zzlybio@126.com