

果糖-6-磷酸(F6P)含量试剂盒(酶法) (微板法)

产品货号: BA2660

产品规格: 96样

产品简介:

果糖-6-磷酸(F6P)是糖代谢和糖异生途径的中间产物,广泛地存在于动植物和微生物体中。

本试剂盒提供一种简单,灵敏,快速的测定方法:果糖-6-磷酸(F6P)在磷酸葡萄糖异构酶和磷酸葡萄糖脱氢酶的相继作用下NADP⁺还原成NADPH,通过检测NADPH在340nm处的增加量即可计算得出样品中的F6P含量。

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	粉体mg×1支	2-8°C	用前甩几下或离心使试剂落入底部,再加1.2mL蒸馏水溶解备用。
试剂二	粉体mg×1支	-20°C	用前甩几下或离心使试剂落入底部,再加1.2mL蒸馏水溶解备用。用不完的液体试剂分装后-20°C保存,禁止反复冻融。
试剂三	液体16mL×1瓶	2-8°C	
试剂四	液体μL×1支	-20°C	用前甩几下或离心使试剂落入底部,再加1.1mL蒸馏水溶解备用。用不完的液体试剂分装后-20°C保存,禁止反复冻融。
标准品	粉体mg×1支	2-8°C	仅用来鉴定试剂盒中试剂是否正常(不参与结果计算)。使用方法:用前标准管(F6P)甩几下使粉剂落入底部,再加0.5mL蒸馏水混匀溶解即浓度为20μmol/mL,再稀释20倍成1μmol/mL的F6P后备用;按照加样表中测定管操作(样本更换成备用浓度标准品)。

所需的仪器和用品:

酶标仪、96孔板、台式离心机、可调式移液器、研钵、水浴锅、冰和蒸馏水。

果糖-6-磷酸(F6P)含量测定:

1. 样本制备

1) 组织样本:

建议称取约0.1g组织,加入1mL提取液,进行冰浴匀浆。12000rpm,4°C离心10min,取上清,置冰上待测。

【注】:若增加样本量,可以按照组织质量(g):提取液体积(mL)为1:5~10的比例提取。

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;取约500万细菌或细胞加入1mL提取液,超声波破碎细菌或细胞(冰浴,功率200W,超声3s,间隔10s,重复30次);12000rpm 4°C离心10min,取上清,置冰上待测。

【注】:若增加样本量,可按照细菌/细胞数量(10⁴):提取液(mL)为500~1000:1的比例进行提取。

3) 液体样本:直接检测。

2. 上机检测:

1) 酶标仪预热 30min 以上,调节波长至 340nm。



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: zzybio@126.com

- 2) 试剂解冻至室温(25°C), 或可放在 25°C 条件下水浴 5-15min。
- 3) 试剂一和二和三可按照 10:10:150 比例配成混合液(一枪加 170μL 该混合液)(该混合液用多少配多少, 现配现用)。
- 4) 在 96 孔板中按照下表依次加入试剂:

试剂名称 (μL)	测定管	空白管 (仅做一次)
试剂一	10	10
试剂二	10	10
试剂三	150	170
样本	20	
混匀, 于室温(25°C)下孵育20min后于340nm处读取A1(若A值继续增加, 需延长孵育时间, 直至2分钟内吸光值不变)。		
试剂四	10	10
混匀, 于室温(25°C)下孵育20min后于340nm处读取A2(若A值继续增加, 需延长孵育时间, 直至2分钟内吸光值不变), $\Delta A = (A2 - A1)$ 测定 - (A2 - A1) 空白。		

注意: 本操作流程适用于绝大多数常规样本检测, 实验条件可根据实际样本状态适度微调; 针对特殊类型样本, 我司技术支持可提供专属优化建议。

结果计算:

1. 按样本重量计算:

$$\text{F6P 含量}(\mu\text{g/g 鲜重}) = [(\Delta A \div (\xi \times d) \times V2 \times 10^6 \times \text{Mr}) \div (W \times V1 \div V)] \times D = 836 \times \Delta A - W \times D$$

2. 按细胞数量计算:

$$\text{F6P 含量}(\mu\text{g}/10^4 \text{ cell}) = [(\Delta A \div (\xi \times d) \times V2 \times 10^6 \times \text{Mr}) \div (500 \times V1 \div V)] \times D = 1.7 \times \Delta A \times D$$

3. 按照液体体积计算:

$$\text{F6P 含量}(\mu\text{g/mL}) = [(\Delta A \div (\xi \times d) \times V2 \times 10^6 \times \text{Mr}) \div V1] = 836 \times \Delta A$$

ξ ---NADH摩尔消光系数, $6.22 \times 10^3 \text{ L/mol/cm}$; d ---96孔板光径, 0.5cm;

V ---加入提取液体积, 1mL;

$V1$ ---加入样本体积, 0.02mL;

$V2$ ---反应总体积, $0.2\text{mL} = 2 \times 10^{-4}\text{L}$;

W ---样本质量, g;

Mr ---果糖-6-磷酸(F6P)分子量, 260;

500---细胞数量, 万;

D ---稀释倍数, 未稀释即为 1。



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