

Fructose 1,6-bisphosphatase Activity Assay Kit

果糖-1,6-二磷酸（酯）酶(FBP)试剂盒说明书

货号:BN72259 | 方法: 微板法 | 规格: 96 样

一、产品简介:

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。

二、试剂盒的组成和配制:

试剂名称	规格	保存要求	备注
提取液	液体 100mL×1 瓶	4℃保存	
试剂一	粉剂 mg×1 支	4℃保存	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。
试剂二	粉剂 mg×1 支	-20℃保存	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, 溶解好的试剂可-20℃分装冻存。
试剂三	液体 1mL×1 支	4℃保存	
试剂四	液体 20mL×1 瓶	4℃保存	
试剂五	粉剂 mg×1 支	4℃保存	用前甩几下或离心使试剂落入底部, 再加 2.1mL 蒸馏水溶解备用。
标准品	粉剂 mg×1 支	4℃保存	若重新做标曲, 则用到该试剂。

三、所需的仪器和用品:

酶标仪、96 孔板、恒温水浴锅、台式离心机、可调式移液器、研钵和蒸馏水。

四、果糖-1,6-二磷酸（酯）酶(FBP)活性检测:

建议正式实验前选取 2 个样本做预测定, 了解本批样品情况, 熟悉实验流程, 避免实验样本和试剂浪费!

1、样本制备:

① 组织样本:

称取约0.1g样本, 加入1mL提取液进行冰浴匀浆, 于4℃, 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。

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、上机检测:

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：

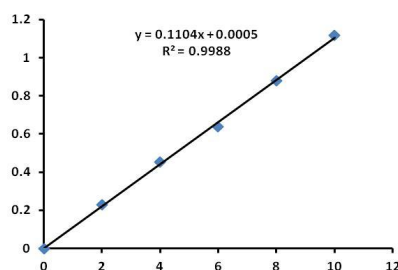
试剂名称（μL）	测定管
样本	10
试剂一	10
试剂二	10
试剂三	10
试剂四	140
轻轻混匀，室温（25℃）孵育 5min	
试剂五	20
混匀，于 450nm 处测定，1min 时读取 A1，15min 后读取 A2， $\Delta A = A2 - A1$ 。	

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。

五、结果计算：

- 1、标准曲线方程： $y = 0.1104x + 0.0005$ ，x 是标准品摩尔质量（nmol），y 是 ΔA 。



标准曲线示意图

说明：标准曲线由标准品测定获得，具体制作方法详见随货说明书或咨询技术支持。

- 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。

$$FBP(\text{nmol/min/mg prot}) = [(\Delta A - 0.0005) \div 0.1104] \div (V1 \times Cpr) \div T = 60.4 \times (\Delta A - 0.0005) \div Cpr$$

- 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。

$$FBP(\text{nmol/min/g 鲜重}) = [(\Delta A - 0.0005) \div 0.1104] \div (W \times V1 \div V) \div T = 60.4 \times (\Delta A - 0.0005) \div W$$

- 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。

$$FBP(\text{nmol/min}/10^4 \text{ cell}) = [(\Delta A - 0.0005) \div 0.1104] \div (W \times V1 \div V) \div T = 60.4 \times (\Delta A - 0.0005) \div 500$$

V---加入提取液体积，1mL；

V1---加入样本体积，0.01mL；

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。