

上海茁彩生物科技有限公司
ZCIBIO Technology Co., Ltd



生化检测原理示意图

Cat. NO: ZC-S0489

Size: 100T/96S

果糖-1,6-二磷酸 (FDP) 检测试剂盒说明书

微量法

*正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定

一、测定意义:

果糖 1,6-二磷酸是机体内的高能代谢物和代谢调控剂, 是糖酵解途径的重要中间体, 广泛存在于动植物和微生物体内, 能影响细胞内钾离子的浓度, 改善葡萄糖和其他能量底物的代谢, 促进组织氧的释放, 广泛应用于临床医药制剂。

二、测定原理:

醛缩酶催化果糖 1,6-二磷酸降解, 产物与 DNPH 缩合成紫红色物质, 在 540nm 有特征吸收峰。

三、需自备的仪器和用品:

天平、低温离心机、研钵、恒温水浴锅、可见分光光度计/酶标仪、微量石英比色皿/96 孔板。

四、试剂的组成和配置:

种类	试剂规格	储存条件	使用方法及注意事项
试剂一	液体 110mL×1 瓶	4℃保存	
试剂二	液体 0.4mL×1 支	4℃避光保存	
试剂三	液体 4mL×1 瓶	4℃避光保存	
试剂四	液体 16mL×1 瓶	4℃保存	

五、样品处理

1. 组织：按照质量(g)：试剂一体积(mL)为 1：5~10 的比例(建议称取约 0.1g，加入 1mL 试剂一)加入试剂一，冰浴匀浆后于 4℃，10000g 离心 10min，取上清待测。
2. 细胞：按照细胞数量(10^4 个)：试剂一体积(mL)为 500~1000：1 的比例(建议 500 万细胞加入 1mL 试剂一)，冰浴超声波破碎细胞(功率 300w，超声 3 秒，间隔 7 秒，总时间 3min)；然后 4℃，10000g 离心 10min，取上清待测。
3. 液体：直接检测。

六、测定操作

	对照管	测定管
样品 (μL)		20
蒸馏水 (μL)	20	
试剂一 (μL)	44	40
试剂二 (μL)		4
充分混匀，37℃反应 30min		
试剂三 (μL)	40	40
充分混匀，37℃温育 10min		
试剂四 (μL)	160	160
充分混匀，于 37℃温育 10min，于微量石英比色皿/96 孔板，蒸馏水调零，测定 540nm 处吸光值，记为 A 对照管和 A 测定管， $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}}$ ，对照管只要做一管。		

七、计算公式

- 用微量石英比色皿测定的计算公式如下

标准曲线: $y = 0.6971x + 0.0012$, $R^2 = 0.9983$

1. 按照质量计算

$$\text{FDP (mg/g 鲜重)} = (\Delta A - 0.0012) \div 0.6971 \div (W \div V \text{ 样总}) = 1.43 \times (\Delta A - 0.0012) \div W$$

2. 按照细胞数量计算

$$\text{FDP (mg/ } 10^4 \text{ cell)} = (\Delta A - 0.0012) \div 0.6971 \div (\text{细胞数量} \div V \text{ 样总})$$

$$= 1.43 \times (\Delta A - 0.0012) \div \text{细胞数量}$$

3. 按照液体体积计算

$$\text{FDP (mg/mL)} = (\Delta A - 0.0012) \div 0.6971 = 1.43 \times (\Delta A - 0.0012)$$

W: 样本质量, g; V 样总: 加入提取液体积, 1mL

- 用 96 孔板测定的计算公式如下

标准曲线: $y = 0.3486x + 0.0012$, $R^2 = 0.9983$

1. 按照质量计算

$$\text{FDP (mg/g 鲜重)} = (\Delta A - 0.0012) \div 0.3486 \div (W \div V \text{ 样总}) = 2.87 \times (\Delta A - 0.0012) \div W$$

2. 按照细胞数量计算

$$\text{FDP (mg/ } 10^4 \text{ cell)} = (\Delta A - 0.0012) \div 0.3486 \div (\text{细胞数量} \div V \text{ 样总})$$

$$= 2.87 \times (\Delta A - 0.0012) \div \text{细胞数量}$$

3. 按照液体体积计算

$$\text{FDP (mg/mL)} = (\Delta A - 0.0012) \div 0.3486 = 2.87 \times (\Delta A - 0.0012)$$

W: 样本质量, g; V 样总: 加入提取液体积, 1mL

八、注意事项

最低检出限为 1.72 mg/L。