

上海茁彩生物科技有限公司  
Shanghai zcibio technology Co., Ltd.



生化检测原理示意图

## 果糖-1, 6-二磷酸酶 (FBP) 检测试剂盒说明书

### 紫外分光光度法

正式测定前务必取2-3个预期差异较大的样本做预测定

产品内容：

种类	试剂规格	储存条件	使用方法及注意事项
提取液	60mL × 1瓶	4°C 保存	-
试剂一	粉剂 × 1瓶	-20°C 保存	临用前加入40mL试剂四充分溶解待用，用不完的试剂4°C保存
试剂二	液体 × 1瓶	4°C 保存	临用前加入2.5mL蒸馏水充分溶解待用，用不完的试剂4°C保存
试剂三	粉剂 × 1瓶	-20°C 保存	临用前加入2.5mL蒸馏水充分溶解待用，用不完的试剂4°C保存
试剂四	液体50mL × 1瓶	4°C 保存	-

产品说明：

果糖-1, 6 二磷酸酶又称果糖1, 6 二磷酸酯酶，催化1, 6 二磷酸果糖和水生成6 磷酸果糖和无机磷，在糖的异生代谢和光合作用同化物蔗糖的合成中起关键性的作用。

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，340nm下测定NADPH增加速率，即可计算FBP活性。

需自备的仪器和用品：

分光光度计、恒温水浴锅、台式离心机、可调式移液器、1 mL 石英比色皿、研钵、冰和蒸馏水。

操作步骤：

### 一、样本的前处理

- 1、细菌或培养细胞：先收集细菌或细胞到离心管内，离心后弃上清；按照细菌或细胞数量（ $10^4$  个）：提取液体积（mL）为500~1000：1 的比例（建议500 万细菌或细胞加入1mL 提取液），超声波破碎细菌或细胞（冰浴，功率20%或200W，超声3s，间隔10s，重复30 次）；8000g 4°C离心10min，取上清，置冰上待测。
- 2、组织：按照组织质量（g）：提取液体积（mL）为1：5~10 的比例（建议称取约0.1g 组织，加入1mL 提取液），进行冰浴匀浆。8000g 4°C离心10min，取上清，置冰上待测。

## 二、测定步骤

- 1、分光光度计预热30min 以上，调节波长至340nm，蒸馏水调零。
- 2、将试剂一、二、三37°C(哺乳动物)或25°C(其它物种)预热10 分钟。
- 3、加样表：

试剂名称 (μL)	测定管
样本	100
试剂二	50
试剂三	50
试剂一	800

将上述试剂按顺序加入1 mL石英比色皿中，立即混匀，加入最后一个试剂的同时开始时，在340 nm 波长下记录反应1min后吸光度A1和反应6min 后的吸光度A2，计算 $\Delta A=A2-A1$ 。

### FBP 活性计算

#### (1) 按样本蛋白浓度计算

单位的定义：每mg 组织蛋白每分钟生成1 nmol 的NADPH 定义为一个酶活力单位。

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

#### (2) 按样本鲜重计算

单位的定义：每g 组织每分钟生成1 nmol 的NADPH 定义为一个酶活力单位。

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

#### (3) 按细菌或细胞密度计算

单位的定义：每1万个细菌或细胞每分钟生成1 nmol 的NADPH 定义为一个酶活力单位。

$$\text{FBP (U/10}^4 \text{ cell)} = [\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (500 \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 0.643 \times \Delta A$$

V 反总：反应体系总体积， $1 \times 10^{-3}$  L； $\epsilon$ ：NADPH 摩尔消光系数， $6.22 \times 10^3$  L / mol /cm；d：比色皿光径，1cm；V 样：加入样本体积，0.1 mL；V 样总：加入提取液体积，1 mL；T：反应时间，5 min；Cpr：样本蛋白质浓度，mg/mL；W：样本质量，g；500：细菌或细胞总数，500 万。