

果糖-1,6-二磷酸酶 (FBP) 检测试剂盒 (紫外分光光度法)

产品货号: BA1141

产品规格: 50管/48样

产品简介:

果糖-1,6-二磷酸酶 (Fructose 1,6-bisphosphatase, FBP) 又称果糖-1,6-二磷酸酯酶, 其在糖异生过程和光合作用同化物蔗糖的合成中起关键性的作用。催化1,6-二磷酸果糖和水生成6-磷酸果糖和无机磷。

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, 测定340nm下NADPH的增加速率, 即可计算FBP活性。

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	液体60mL×1瓶	2-8℃
试剂一	粉剂×1瓶	2-8℃
试剂二	液体18μL×1瓶	-20℃
试剂三	液体245μL×1瓶	-20℃
试剂四	液体50mL×1瓶	2-8℃

溶液的配制:

1. 试剂一: 临用前加入45mL试剂四充分溶解待用, 用不完的试剂于4℃保存。
2. 试剂二: 液体置于试剂瓶内EP管中。临用前加入2.5mL蒸馏水充分溶解待用, 用不完的试剂分装后-20℃保存, 避免反复冻融。
3. 试剂三: 液体置于试剂瓶内EP管中。临用前加入2.5mL蒸馏水充分溶解待用, 用不完的试剂分装后-20℃保存, 避免反复冻融。

试验中所需的仪器和试剂:

紫外分光光度计、天平、低温离心机、1mL石英比色皿、可调式移液枪、研钵/匀浆器、冰盒、蒸馏水。

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): 提取液体积 (mL) 为 1: 5~10 的比例 (建议称取约 0.1g, 加入 1mL 提取液) 进行冰浴匀浆。于 4℃, 8000g, 离心 10min, 取上清, 置冰上待测。
2. 细胞: 按照细胞数量 (10^4 个): 提取液体积 (mL) 为 500~1000: 1 的比例 (建议 500 万细胞加入 1mL 提取液), 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℃, 8000g, 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 37℃ (哺乳动物) 或 25℃ (其它物种) 预热 10min。



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司
Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址: 上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话: 400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱: saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com

3. 操作表: (在 1mL 石英比色皿中依次加入下列试剂)。

试剂名称 (μL)	测定管	空白管
样本	100	-
提取液	-	100
试剂二	50	50
试剂三	50	50
试剂一	800	800

在 1mL 石英比色皿中分别加入上述试剂,充分混匀后于 340nm 处测定 10s 时的吸光值 A1,迅速置于 37°C(哺乳动物)或 25°C(其它物种)水浴 5min,拿出迅速擦干测定 310s 时的吸光值 A2,计算 ΔA 测定管=A2 测定-A1 测定, ΔA 空白管=A2 空白-A1 空白, $\Delta A = \Delta A$ 测定管- ΔA 空白管。(空白管只需做 1-2 次)

三、FBP 含量计算

1. 按蛋白浓度计算

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

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

2. 按样本质量计算

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

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

3. 按细菌或细胞密度计算

单位的定义: 每 10^4 个细菌或细胞每分钟生成 1nmol 的 NADPH 定义为一个酶活力单位。

$$\begin{aligned} \text{FBP (U/10}^4\text{cell)} &= \Delta A \div (\epsilon \times d) \times 10^9 \times V \text{ 反总} \div (V \text{ 样} \div V \text{ 样总} \times \text{细胞数量 (万个)}) \div T \\ &= 321.5 \times \Delta A \div \text{细胞数量 (万个)} \end{aligned}$$

V 反总: 反应体系总体积, 1×10^{-3} L; ϵ : NADPH 摩尔消光系数, 6.22×10^3 L/mol/cm; d: 比色皿光径, 1cm; V 样: 加入样本体积, 0.1mL; V 样总: 加入提取液体积, 1mL; T: 反应时间, 5min; Cpr: 样本蛋白质浓度, mg/mL; W: 样本质量, g; 10^9 : 单位换算系数, $1\text{mol}=10^9\text{nmol}$ 。

注意事项:

1. 当 ΔA 大于 0.6 时, 建议将样本稀释后再进行测量。
2. 空白管为检测各试剂组分质量的检测孔, 正常情况下, 变化不超过 0.02。



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司
 Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址:上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话:400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱: saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com