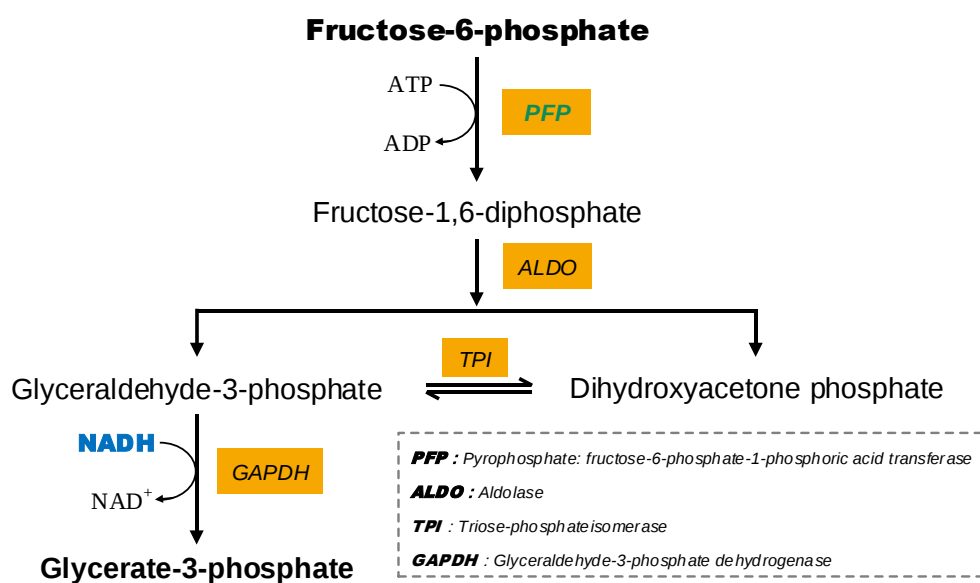




焦磷酸：果糖-6-磷酸-1 磷酸转移酶（PFP）活性检测试剂盒

Pyrophosphate:Fructose-6-Phosphate-1 Phosphotransferase (PFP) Activity Assay Kit



北京盒子生工科技有限公司
Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.



焦磷酸：果糖-6-磷酸-1 磷酸转移酶（PFP）活性检测试剂盒

Pyrophosphate:Fructose-6-Phosphate-1 Phosphotransferase (PFP) Activity Assay Kit

一、产品描述

焦磷酸：果糖-6-磷酸-1-磷酸转移酶（PFP）是一种广泛存在于植物组织及一些微生物体内的胞质酶，通过磷酸化和去磷酸化可逆地催化果糖-6-磷酸与果糖-1,6-二磷酸之间的转化，在光合作用碳代谢中起重要作用。

PFP 能够催化 6-磷酸果糖转化为 1,6-二磷酸果糖，在醛缩酶和磷酸丙糖异构酶的作用下转变为 3-磷酸甘油醛，再通过 3-磷酸甘油醛脱氢酶催化 3-磷酸甘油醛和 NADH 生成 3-磷酸甘油酸、NAD 和磷酸，NADH 在 340 nm 处具有特征吸收峰，通过吸光值变化即可表征 PFP 的活性。

二、产品内容

名称	试剂规格	储存条件	使用说明及注意事项
提取液	液体 50 mL×1 瓶	4°C保存	-
试剂一	液体 30 mL×1 瓶	4°C避光保存	-
试剂二	粉剂×1 瓶	-20°C避光保存	使用前加入 5 mL 蒸馏水充分溶解 (分装后-20°C保存，禁止反复冻融)
试剂三	粉剂×1 瓶	-20°C避光保存	使用前加入 5 mL 蒸馏水充分溶解 (分装后-20°C保存，禁止反复冻融)
试剂四	液体 500 μL×1 支	4°C避光保存	-
试剂五	液体 500 μL×1 支	4°C避光保存	-
试剂六	液体 5 mL×1 瓶	4°C避光保存	-

三、产品使用说明

测定过程中所需要的仪器和试剂：紫外分光光度计、1 mL 石英比色皿（光径 10 mm）、可调式移液器、台式离心机、研钵/匀浆器、恒温水浴/培养箱和蒸馏水。

1.粗酶液的制备（可根据预实验结果适当调整样本量及比例）

①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 0.1 g 组织，加入 1 mL 提取液）处理样品，冰浴匀浆，4℃ 10000 g 离心 10 min，取上清置于冰上待测。

②细菌或细胞：离心收集细菌或细胞至离心管内，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 1 mL 提取液）处理样本，冰浴超声破碎（功率 300 W，超声 3 s，间隔 7 s，总时间 3 min），4℃ 10000 g 离心 10 min，取上清置于冰上待测。

③液体样本：直接检测或适当稀释后进行检测。

2.测定步骤

①分光光度计预热 30 min 以上，调节波长至 340 nm，蒸馏水调零。

②在 1 mL 石英比色皿中依次加入下列试剂：

试剂	测定组 (μL)
试剂一	580
试剂二	100
试剂三	100
试剂四	10
试剂五	10
试剂六	100
粗酶液	100

吸光值测定：①充分混匀并立即开始计时，测定 10 s（总时间）时 340 nm 处吸光值，记为 A1；

②准确反应 300 s，测定 310 s（总时间）时 340 nm 处吸光值，记为 A2；③计算 $\Delta A = A1 - A2$ 。

3.焦磷酸：果糖-6-磷酸-1 磷酸转移酶（PFK）活性计算

①按组织蛋白浓度计算

单位定义：每 mg 组织蛋白每分钟消耗 1 nmol NADH 定义为一个酶活力单位。

$$\text{PFK (U/mg prot)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times 10^9}{\epsilon \times d \times V_{\text{样}} \times \text{Cpr} \times T} = \frac{321.54 \times \Delta A}{\text{Cpr}}$$

②按组织样本质量计算

单位定义：每 g 组织每分钟消耗 1 nmol NADH 定义为一个酶活力单位。

$$\text{PFK (U/g)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{提}} \times 10^9}{\epsilon \times d \times V_{\text{样}} \times W \times T} = \frac{321.54 \times \Delta A}{W}$$

③按细菌或细胞数量计算

单位定义：每 10^4 个细菌或细胞每分钟消耗 1 nmol NADH 定义为一个酶活力单位。

$$\text{PFP (U/10}^4 \text{ cell)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{提}} \times 10^9}{\epsilon \times d \times V_{\text{样}} \times \text{细菌或细胞数量} \times T} = \frac{321.54 \times \Delta A}{\text{细菌或细胞数量}}$$

④按液体样本体积计算

单位定义：每 mL 液体样本每分钟消耗 1 nmol NADH 定义为一个酶活力单位。

$$\text{PFP (U/mL)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times 10^9}{\epsilon \times d \times V_{\text{样}} \times T} = 321.54 \times \Delta A$$

注释： $V_{\text{反总}}$ ：反应体系总体积，0.001 L； ϵ ：NADH 摩尔消光系数， 6.22×10^3 L/mol/cm； d ：比色皿光径，1 cm； $V_{\text{样}}$ ：反应体系中加入粗酶液的体积，0.1 mL； $V_{\text{提}}$ ：粗酶液总体积，1 mL； T ：反应时间，300 s=5 min； C_{pr} ：样本蛋白浓度，mg/mL； W ：样本质量，g；细菌或细胞数量：以万计； 10^9 ：单位换算系数，1 mol = 10^9 nmol。

四、注意事项

为保证结果准确且避免试剂损失，测定前请仔细阅读说明书（以实际收到说明书内容为准），确认试剂储存和准备是否充分，操作步骤是否清楚，且务必取 2-3 个预期差异较大的样本进行预测定，过程中问题请您及时与工作人员联系。

For Research Use Only. Not for Use in Diagnostic Procedures.

boxbio

Manufactured and Distributed by

Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.

Liaodong U Valley, Tongzhou District, Beijing, China

TEL: 400-805-8228

E-MAIL: techsupport@boxbio.cn

Copyright © 2020 Boxbio, All Rights Reserved.

