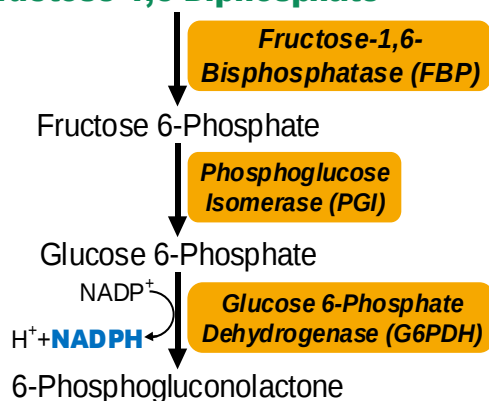




果糖-1,6-二磷酸酶 (FBP) / 果糖-1,6-二磷酸酯酶活性检测试剂盒

**Fructose-1,6-Bisphosphatase (FBP) Activity Assay Kit**

**Fructose 1,6-Diphosphate**



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



**果糖-1,6-二磷酸酶 (FBP) /果糖-1,6-二磷酸酯酶活性检测试剂盒****Fructose-1,6-Bisphosphatase (FBP) Activity Assay Kit****一、产品描述**

果糖-1,6-二磷酸酶 (FBP) 又称果糖-1,6-二磷酸酯酶, 可催化 1,6-二磷酸果糖生成 6-磷酸果糖和无机磷, 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。

果糖-1,6-二磷酸酶可催化 1,6-二磷酸果糖生成 6-磷酸果糖和无机磷, 进一步在磷酸葡萄糖异构酶和 6-磷酸葡萄糖脱氢酶催化作用下生成 6-磷酸葡萄糖酸和 NADPH, NADPH 在 340 nm 处具有特征吸收峰, 通过测定吸光值的增加速率即可表征果糖-1,6-二磷酸酶的活性。

**二、产品内容**

| 名称  | 试剂规格              | 储存条件    | 使用方法及注意事项                                             |
|-----|-------------------|---------|-------------------------------------------------------|
| 提取液 | 液体 60 mL×1 瓶      | 4°C保存   | -                                                     |
| 试剂一 | 液体 22 $\mu$ L×1 瓶 | -20°C保存 | 使用前加入 3.05 mL 蒸馏水充分溶解<br>(分装后-20°C可保存 1 个月, 避免反复冻融)   |
| 试剂二 | 粉剂×4 支            | 4°C保存   | 使用前每支加入 0.77 mL 蒸馏水充分溶解<br>(分装后-20°C可保存 1 个月, 避免反复冻融) |
| 试剂三 | 粉剂×1 瓶            | 4°C保存   | 使用前加入 45 mL 试剂四充分溶解<br>(分装后-20°C可保存 1 个月, 避免反复冻融)     |
| 试剂四 | 液体 50 mL×1 瓶      | 4°C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)、研钵/匀浆器、可调式移液器、台式离心机、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°C 8000 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) 处理样品, 冰浴超声破碎 (功率 300 W, 超声 3 s, 间隔 7 s, 总时间 3 min), 4°C 8000 g 离心 10 min, 取上清置于冰上待测。

## 2.测定步骤

- ①紫外分光光度计预热 30 min 以上，调节波长至 340 nm，蒸馏水调零。
- ②试验前将试剂三置于 37℃（哺乳动物）或 25℃（其它物种）预热 10 min。
- ③在 1 mL 石英比色皿中依次加入下列试剂：

| 试剂  | 测定组<br>(μL) | 空白组<br>(μL) |
|-----|-------------|-------------|
| 粗酶液 | 100         | -           |
| 提取液 | -           | 100         |
| 试剂一 | 50          | 50          |
| 试剂二 | 50          | 50          |
| 试剂三 | 800         | 800         |

**吸光值测定：**①立即混匀并开始计时，测定 10 s（总时间）时 340 nm 处吸光值，记为 A1 测定和 A1 空白；②37℃（哺乳动物）或 25℃（其它物种）反应 300 s，测定 310 s（总时间）时 340 nm 处吸光值，记为 A2 测定和 A2 空白；计算  $\Delta A$  测定 = A2 测定 - A1 测定， $\Delta A$  空白 = A2 空白 - A1 空白， $\Delta A = \Delta A$  测定 -  $\Delta A$  空白。注：空白组只需测定 1-2 次。

## 3.果糖-1,6-二磷酸酶（FBP）活性计算

- ①按组织蛋白浓度计算

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

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

- ②按组织样本质量计算

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

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

- 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生成 1 nmol NADH 定义为一个酶活力单位。

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

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

#### 四、注意事项

- ①若 $\Delta A$  大于 0.5 时，建议将粗酶液适当稀释后再进行测定，以提高检测灵敏，计算时相应修改
- ②空白组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；
- ③准确在 10 s 和 310 s 时完成检测，以保证结果的准确；
- ④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.

