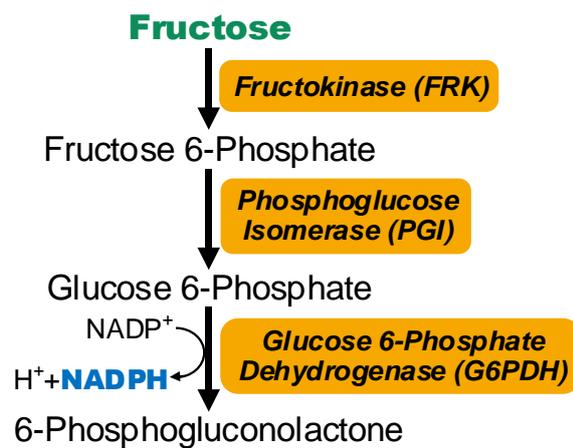




果糖激酶 (FRK) 活性检测试剂盒
Fructokinase (FRK) Activity Assay Kit



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



果糖激酶 (FRK) 活性检测试剂盒

Fructokinase (FRK) Activity Assay Kit

一、产品描述

果糖激酶是催化果糖磷酸化的主要酶，还可以作为植物的己糖感受器和信号分子，通过影响植物的生长周期来调控植物的代谢和生长发育进程，在库组织中发挥重要的作用，其活性变化对研究植物中果糖代谢调节机制具有十分重要的意义。

果糖激酶可催化果糖合成 6-磷酸果糖，6-磷酸果糖在磷酸己糖异构酶的作用下异构为 6-磷酸葡萄糖，6-磷酸葡萄糖脱氢酶进一步催化 6-磷酸葡萄糖脱氢生成 NADPH，NADPH 在 340 nm 处具有特征吸收峰，通过吸光值变化即可表征果糖激酶的活性。

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 100 mL×1 瓶	4°C 保存	-
试剂一	液体 25 mL×1 瓶	4°C 保存	-
试剂二	粉剂×1 瓶	-20°C 保存	使用前加入 12 mL 试剂一充分溶解 (分装后-20°C可保存一个月，避免反复冻融)
试剂三	粉剂×1 瓶	-20°C 保存	使用前加入 3 mL 试剂一充分溶解 (分装后-20°C可保存一个月，避免反复冻融)
试剂四	液体 30 μL×1 瓶	4°C 保存	使用前加入 3 mL 试剂一充分溶解 (分装后-20°C可保存一个月，避免反复冻融)

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/酶标仪、微量石英比色皿（光径 10 mm）/96 孔 UV 板、研钵/匀浆器、可调式移液器/多道移液器、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 万个细菌或细胞加入 1 mL 提取液）处理样品，冰浴超声破碎（功率 20%或 200 W，超声 3 s，间隔 10 s，重复 30 次），4°C 8000 g 离心 10 min，取上清置于冰上待测。

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 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。

③血清（浆）、培养液等液体样本：直接检测或适当稀释后再进行检测。

2.测定步骤

①紫外分光光度计或酶标仪预热 30 min 以上，调节波长至 340 nm，蒸馏水调零。

②在 96 孔 UV 板或微量石英比色皿中依次加入下列试剂：

试剂	测定组 (μL)
粗酶液	50
试剂二	100
试剂三	25
试剂四	25

吸光值测定：①充分混匀并立即开始计时，测定 30 s（总时间）时 340 nm 处吸光值，记为 A1；

②准确反应 300 s，测定 330 s（总时间）时 340 nm 处吸光值，记为 A2；③计算 $\Delta A = A2 - A1$ 。

3.果糖激酶（FRK）活性计算

3.1 使用 96 孔 UV 板测定的计算公式

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 NADPH 定义为一个酶活力单位。

$$\text{FPK (U/mg prot)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times 10^9}{\epsilon \times d_1 \times V_{\text{样}} \times \text{Cpr} \times T} = \frac{257.23 \times \Delta A}{\text{Cpr}}$$

②按组织样本质量计算

单位定义：每 g 组织样本每分钟生成 1 nmol NADPH 定义为一个酶活力单位。

$$\text{FPK (U/g)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{样总}} \times 10^9}{\epsilon \times d_1 \times V_{\text{样}} \times W \times T} = \frac{257.23 \times \Delta A}{W}$$

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 NADPH 定义为一个酶活力单位。

$$\text{FPK (U/10}^4 \text{ cell)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{样总}} \times 10^9}{\epsilon \times d_1 \times V_{\text{样}} \times \text{细菌或细胞数量} \times T} = \frac{257.23 \times \Delta A}{\text{细菌或细胞数量}}$$

④按液体样本体积计算

单位定义：每 mL 液体样本每分钟生成 1 nmol NADPH 定义为一个酶活力单位。

$$\text{FPK (U/mL)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times 10^9}{\varepsilon \times d_1 \times V_{\text{样}} \times T} = 257.23 \times \Delta A$$

注释： V 样：反应体系中加入粗酶液的体积，0.05 mL；V 样总：粗酶液总体积，1 mL；V 反总：反应体系总体积， 2×10^{-4} L； ε ：NADPH 摩尔消光系数， 6.22×10^3 L/mol/cm； d_1 ：96 孔 UV 板光径，0.5 cm；T：反应时间，300 s=5 min；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， 10^9 ：单位换算系数，1 mol/L= 10^9 nmol/L。

3.2 使用微量石英比色皿测定的计算公式

将上述公式中 96 孔 UV 板光径 ($d_1=0.5$) 改为微量石英比色皿光径 ($d_2=1.0$) 计算即可。

四、注意事项

①准确在 20 s 和 320 s 处完成吸光值，以保证实验结果的准确性和重复性；若使用 96 孔 UV 板应使用多道移液器且分批进行检测，以确保组间反应时间一致；

②若 ΔA 大于 0.5，建议将粗酶液适当稀释后再进行测定；若 ΔA 小于 0.02，建议适当延长酶促反应时间或增加样本量后再进行测定，计算时相应修改；

③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.
Liandong U Valley, Tongzhou District, Beijing, China

TEL: 400-805-8228

E-MAIL: techsupport@boxbio.cn

Copyright © 2020 Boxbio, All Rights Reserved.

