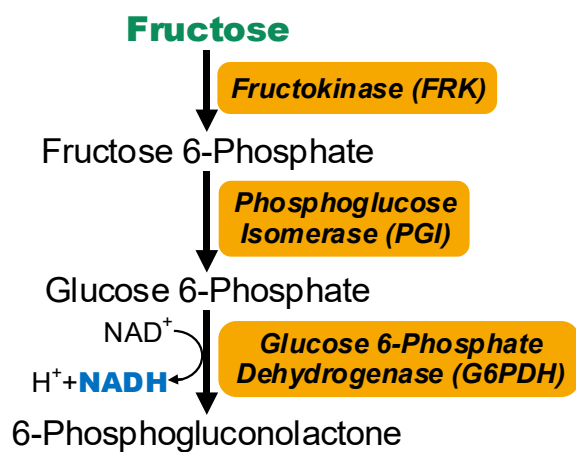




果糖激酶 (FRK) 活性检测试剂盒
Fructokinase (FRK) Activity Assay Kit



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 NADH，NADH 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	组分 A	液体 60 mL×1 瓶	4°C 保存	使用前将组分 B 加入组分 A 中充分混匀 (配制后为悬浊液，充分混匀后使用即可)
	组分 B	粉剂×1 瓶	4°C 保存	
试剂一		粉剂×1 瓶	-20°C 保存	使用前加入 6 mL 蒸馏水充分混匀 (分装后-20°C可保存 1 个月，避免反复冻融)
试剂二		粉剂×1 瓶	-20°C 保存	使用前加入 6 mL 蒸馏水充分混匀 (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 6 mL 蒸馏水充分混匀 (配制后 4°C可保存 1 个月)
试剂四		液体 30 mL×1 瓶	4°C 保存	-
试剂五		液体 24 μL×1 支	-20°C 保存	-
试剂六		粉剂×3 支	-20°C 保存	使用前每支加入 1 mL 蒸馏水充分溶解 (分装后-20°C可保存 2 周，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、1 mL 石英比色皿（光径 10 mm、狭缝 3 mm、体积 1.05 mL）、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℃ 8000 g 离心 10 min，取上清液置于冰上待测。

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 200 W，超声 3 s，间隔 10 s，重复 30 次），4℃ 8000 g 离心 10 min，取上清液置于冰上待测。

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试验前将试剂四置于 37℃ 预热 15 min 以上。

③检测工作液的制备（现用现配）：根据使用量按试剂五：蒸馏水=1:125 的体积比配制，充分混匀即为检测工作液。

④在 1 mL 石英比色皿中依次加入下列试剂：

试剂	测定组 (μL)	空白组 (μL)
试剂一	100	100
试剂二	100	100
试剂三	100	100
试剂四	500	500
检测工作液	50	50
试剂六	50	50
蒸馏水	-	100
粗酶液	100	-

吸光值测定：①充分混匀并立即开始计时，测定 20 s（总时间）时 340 nm 处吸光值，记为 A1 测定和 A1 空白；②37℃ 恒温准确反应 300 s，测定 320 s（总时间）时 340 nm 处吸光值，记为 A2 测定和 A2 空白；③计算 $\Delta A_{\text{测定}} = A2_{\text{测定}} - A1_{\text{测定}}$ ， $\Delta A_{\text{空白}} = A2_{\text{空白}} - A1_{\text{空白}}$ ， $\Delta A = \Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}$ 。
注：空白组只需测定 1-2 次。

3.果糖激酶（FRK）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。

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

②按组织样本质量计算

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

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

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生成 1 nmol NADH 定义为一个酶活力单位。

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

④按液体样本体积计算

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

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

注释： 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；V 反总：反应体系总体积， 1×10^{-3} L； ϵ ：NADH 摩尔消光系数， 6.22×10^3 L/mol/cm；d：1 mL 石英比色皿光径，1 cm；T：酶促反应时间，5 min；Cpr：粗酶液蛋白浓度，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， $1 \text{ mol/L} = 10^9 \text{ nmol/L}$ 。

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；

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.

