果糖-1,6-二磷酸检测试剂盒

FDP Assay Kit

可见分光光度法

产品编号：AK405V

产品规格：50T/48S

产品组成及保存条件：

编号	规格	储存条件
AK405-A	65mL×1 瓶	4℃保存；
AK405-B	1mL×1 支	4℃避光保存；
AK405-C	10mL×1 瓶	4℃避光保存；
AK405-D	40mL×1 瓶	4℃保存；
AK405-标准品	粉剂×1 支	临用前加入 1176 μL 蒸馏水充分溶解，配制成 50 μmol/mL 标准溶液；4℃保存

※ 正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定。

简介：

意义：果糖 1,6-二磷酸是机体内的高能代谢物和代谢调控剂，是糖酵解途径的重要中间体，广泛存在于动植物和微生物体内，能影响细胞内钾离子的浓度，改善葡萄糖和其他能量底物的代谢，促进组织氧的释放，广泛应用于临床医药制剂。

原理：醛缩酶催化果糖 1,6-二磷酸降解，产物与 DNPH 缩合成紫红色物质，在 540nm 有特征吸收峰。

自备用品：

可见分光光度计，1 mL 玻璃比色皿，天平，低温离心机，研钵，恒温水浴锅。

样品处理：

1. 组织：按照质量（g）：AK405-A 体积(mL)为 1：5~10 的比例（建议称取约 0.1g，加入 1mL AK405-A）加入 AK405-A，冰浴匀浆后于 4℃，10000g 离心 10min，取上清待测。
2. 细胞：按照细胞数量（10^4 个）：AK405-A 体积（mL）为 500~1000：1 的比例（建议 500 万细胞加入 1mL AK405-A），冰浴超声波破碎细胞（功率 300w，超声 3 秒，间隔 7 秒，总时间 3min）；然后 4℃，10000g 离心 10min，取上清待测。
3. 液体：直接检测。

测定步骤：

1. 分光光度计预热 30min 以上，调节波长至 540nm，蒸馏水调零。
2. 将 50μmol/mL 的果糖-1,6-二磷酸标准液用蒸馏水倍比稀释为 3.125、1.5625、0.78125、0.39、0.2、0.1 μmol/mL 的标准溶液备用。
3. 在 EP 管中依次加入下列试剂：

试剂名称	对照管（μL）	测定管（μL）	标准管（μL）	空白管（μL）
样本	100	100		
蒸馏水				100
标准溶液			100	
AK405-A	220	200	200	220
AK405-B		20	20	
充分混匀，37℃反应 30min				
AK405-C	200	200	200	200

充分混匀，37℃温育 10min				
AK405-D	800	800	800	800
充分混匀，于 37℃温育 10min，于微量石英比色皿/96 孔板，蒸馏水调零，测定 540nm 处吸光值，分别记为 A 对照管、A 测定管、A 空白管和 A 标准管。计算ΔA=A 测定管-A 对照管，ΔA 标准=A 标准管-A 空白管。（空白需检测 1-2 次）。				

计算公式：

1. 标准曲线的绘制：

以各个标准溶液的浓度为 x 轴，其对应的 ΔA 标准为 y 轴，绘制标准曲线，得到标准方程 y= kx+b，将 ΔA 带入方程得到 x（μmol/mL）。

2. FDP 含量的计算：

（1）按照质量计算

FDP (μg/g 鲜重) =x÷(W÷V 样总) = x÷W

（2）按照细胞数量计算

FDP (μg/10^4 cell) =x÷(细胞数量÷V 样总) = x÷细胞数量

（3）按照液体体积计算

FDP (μmol/mL) = x

注：W：样本质量，g；V 样总：加入 AK405-A 体积，1mL

※ 蛋白定量检测建议使用本公司：BCA Protein Assay Kit (C05-02001)

注意事项

最低检出限为 1.72 mg/L。