



## 果糖 1,6-二磷酸醛缩酶活性检测试剂盒

### FDA Assay Kit

微量法

**产品编号:** AK508M

**产品规格:** 100T/96S

**产品组成及保存条件:**

编号	规格	储存条件
ES508-1	100mL×1 瓶	4℃保存；
ES508-2	100mL×1 瓶	4℃保存；
AK508-A	10mL×1 瓶	4℃避光保存；
AK508-B	粉剂×1 瓶	-20℃避光保存。临用前加 2mL 蒸馏水充分溶解；用不完的试剂分装后-20℃保存，禁止反复冻融。
AK508-C	粉剂×1 瓶	-20℃避光保存。临用前加 2mL 蒸馏水充分溶解；用不完的试剂分装后-20℃保存，禁止反复冻融。
AK508-D	粉剂×1 瓶	-20℃避光保存。临用前加 2mL 蒸馏水充分溶解；用不完的试剂分装后-20℃保存，禁止反复冻融。
AK508-E	2mL×1 瓶	-20℃避光保存；禁止反复冻融。

※ 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:** 植物叶绿体中果糖 1,6-二磷酸醛缩酶 (Fructose 1,6 bisphosphate aldolase, FDA) 是光合作用中参与 calvin 循环的重要酶。催化果糖 1,6-二磷酸和景天庚酮糖 1,7-二磷酸的合成反应，在各种逆境胁迫下表现不同的响应。

**原理:** 磷酸丙糖异构酶将磷酸二羟丙酮转化为 3-磷酸甘油醛，3-磷酸甘油醛与 NAD 在 3-磷酸甘油醛脱氢酶的作用下生成 3-磷酸甘油酸和 NADH，340nm 处的吸光度变化反映了磷酸丙糖异构酶的活性的高低。

**自备用品:**

紫外分光光度计/酶标仪、微量石英比色皿/96 孔板 (UV 板)、天平、低温离心机、研钵、震荡仪。

**酶液提取**

- 总 FDA 酶提取:** 建议称取约 0.1g 样本，加入 1mL ES508-1，冰浴匀浆后超声破碎 (冰浴，200W，破碎 3s，间歇 7s，总时间 1min)，然后 4℃，8000g 离心 10min，取上清测定。
- 胞浆和叶绿体 FDA 酶的分离:** 按照植物组织质量 (g)：提取液体积 (mL) 为 1: 5~10 的比例 (建议称取约 0.1g 样本，加入 1mL ES508-1)，冰浴匀浆后于 4℃，200g 离心 5min，弃沉淀，取上清在 4℃，8000g 离心 10min，取上清用于测定胞浆 FDA 酶活性，取沉淀加 1mL ES508-2，震荡溶解后超声破碎 (冰浴，200W，破碎 3s，间歇 7s，总时间 1min)，然后 4℃，8000g 离心 10min，取上清测定叶绿体中 FDA 酶活性。
- 建议测定总 FDA 酶活性，按照步骤 1 提取粗酶液，若需要分别测定胞浆和叶绿体中的 FDA，则按照步骤 2 提取粗酶液。**

**测定步骤:**

- 紫外分光光度计/酶标仪预热 30min，调节波长至 340nm，蒸馏水调零。
- 取微量石英比色皿/96 孔板，依次加入：

试剂名称	测定管(ul)
AK508-A	100
AK508-B	20
AK508-C	20

AK508-D	20
AK508-E	20
粗酶液	20
充分混匀，记录 340nm 处 10s 的吸光值 A1 和 310s 的吸光值 A2, $\Delta A = A1 - A2$	

#### 计算公式：

##### a. 用微量石英比色皿测定的计算公式如下

###### 1. 按照样本蛋白浓度计算

酶活单位定义：每毫克组织蛋白每分钟消耗 1 nmol 的 NADH 定义为一个酶活力单位。

$$FDA (\text{U/mg prot}) = \Delta A \div (\varepsilon \times d) \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \times C_{\text{pr}}) \div T = 321.54 \times \Delta A \div C_{\text{pr}}$$

###### 2. 按照样本质量计算

酶活单位定义：每克组织每分消耗 1 nmol 的 NADH 定义为一个酶活力单位。

$$FDA (\text{U/g 鲜重}) = \Delta A \div (\varepsilon \times d) \times V_{\text{反总}} \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{总}}) \div T = 321.54 \times \Delta A \div W$$

###### 3. 按照细胞数量计算

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

$$FDA (\text{U}/10^4 \text{ cell}) = \Delta A \div (\varepsilon \times d) \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \times \text{细胞数量} \div V_{\text{总}}) \div T = 321.54 \times \Delta A \div \text{细胞数量}$$

###### 4. 按照液体体积计算

酶活单位定义：每毫升液体每分钟消耗 1 nmol 的 NADH 定义为一个酶活力单位。

$$FDA (\text{U/mL}) = \Delta A \div (\varepsilon \times d) \times V_{\text{反总}} \div V_{\text{样}} \div T = 321.54 \times \Delta A$$

注：V 反总：反应体系总体积，0.2mL； $\varepsilon$ ：NADH 摩尔消光系数， $6.22 \times 10^3 \text{ L/mol/cm}$ ；d：比色皿光径，1cm；

V 样：加入样本体积，0.02mL；V 样总：加入提取液体积，1mL；T：反应时间，5 min；Cpr：样本蛋白质浓度，mg/mL；W：样本质量，g。

##### b. 用 96 孔板测定的计算公式如下

###### 1. 按照样本蛋白浓度计算

酶活单位定义：每毫克组织蛋白每分钟消耗 1 nmol 的 NADH 定义为一个酶活力单位。

$$FDA (\text{U/mg prot}) = \Delta A \div (\varepsilon \times d) \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \times C_{\text{pr}}) \div T = 643.08 \times \Delta A \div C_{\text{pr}}$$

###### 2. 按照样本质量计算

酶活单位定义：每克组织每分消耗 1 nmol 的 NADH 定义为一个酶活力单位。

$$FDA (\text{U/g 鲜重}) = \Delta A \div (\varepsilon \times d) \times V_{\text{反总}} \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{总}}) \div T = 643.08 \times \Delta A \div W$$

###### 3. 按照细胞数量计算

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

$$FDA (\text{U}/10^4 \text{ cell}) = \Delta A \div (\varepsilon \times d) \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \times \text{细胞数量} \div V_{\text{总}}) \div T = 643.08 \times \Delta A \div \text{细胞数量}$$

###### 4. 按照液体体积计算

酶活单位定义：每毫升液体每分钟消耗 1 nmol 的 NADH 定义为一个酶活力单位。

$$FDA (\text{U/mL}) = \Delta A \div (\varepsilon \times d) \times V_{\text{反总}} \div V_{\text{样}} \div T = 643.08 \times \Delta A$$

注：V 反总：反应体系总体积，0.2mL； $\varepsilon$ ：NADH 摆尔消光系数， $6.22 \times 10^3 \text{ L/mol/cm}$ ；d：比色皿光径，0.5cm；

V 样：加入样本体积，0.02mL；V 样总：加入提取液体积，1mL；T：反应时间，5 min；Cpr：样本蛋白质浓度，mg/mL；W：样本质量，g。