



果糖-1,6-二磷酸检测试剂盒

FDP Assay Kit

微量法

产品编号: AK405M

产品规格: 100T/96S

产品组成及保存条件:

编号	规格	储存条件
AK405-A	110mL×1 瓶	4℃保存
AK405-B	0.4mL×1 支	4℃避光保存
AK405-C	4mL×1 瓶	4℃避光保存
AK405-D	16mL×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:

分光光度计/酶标仪、恒温水浴锅、台式离心机、可调式移液器、微量玻璃比色皿/96 孔板、研钵、冰和蒸馏水。

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 (10⁴ 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	20	20		
蒸馏水				20
标准溶液			20	
AK405-A	44	40	40	44
AK405-B		4	4	
充分混匀, 37℃反应 30min				
AK405-C	40	40	40	40

充分混匀，37℃温育 10min				
AK405-D	160	160	160	160
充分混匀，于 37℃温育 10min，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 $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}}$ ， $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准管}} - A_{\text{空白管}}$ （空白管和标准曲线需检测 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 ($\mu\text{mol/mL}$)。

2. FDP 含量的计算：

(1) 按照质量计算

$$\text{FDP } (\mu\text{g/g 鲜重}) = x \div (W \div V_{\text{样总}}) = x \div W$$

(2) 按照细胞数量计算

$$\text{FDP } (\mu\text{g}/10^4 \text{ cell}) = x \div (\text{细胞数量} \div V_{\text{样总}}) = x \div \text{细胞数量}$$

(3) 按照液体体积计算

$$\text{FDP } (\mu\text{mol/mL}) = x$$

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](#))