

果糖 1,6-二磷酸醛缩酶（FBA）检测试剂盒（微量法）

货号：PMK1129

保存：-20℃保存 6 个月

规格：48T/96T

适用样本：动植物组织、细胞、细菌、血清（浆）

产品简介

果糖-1,6-二磷酸醛缩酶（FBA；EC 4.1.2.13）是糖酵解和糖异生途径中的重要酶，催化果糖 1,6-二磷酸可逆的裂解为磷酸二羟丙酮和 3-磷酸甘油醛。果糖 1,6-二磷酸醛缩酶广泛存在于动植物及微生物体内，为生物体合成代谢提供能量。在植物叶绿体中，果糖 1,6-二磷酸醛缩酶是光合作用中参与 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。本试剂盒提供了一种简单易用的比色法，用于分析各种生物样本中的 FBA 活性，其原理是果糖 1,6-二磷酸醛缩酶催化果糖 1,6-二磷酸裂解生成 3-磷酸甘油醛和磷酸二羟丙酮，3-磷酸甘油醛与 DNPH 缩合成紫红色物质，在 540nm 有特征吸收峰。测定生成的 3-磷酸甘油醛可反映果糖 1,6-二磷酸醛缩酶活性。

产品内容

试剂盒组分	规格		储存条件
	48T	96T	
试剂一	55mL	110mL	4℃保存
试剂二	粉剂×1 瓶	粉剂×1 瓶	-20℃保存
试剂三	2.5mL	5mL	4℃避光保存
试剂四	10mL	20mL	4℃保存
标准品（3-磷酸甘油醛 20mM）	0.1mL	0.2mL	-20℃保存

自备耗材

酶标仪或可见分光光度计（能检测 540nm）
96 孔板或微量玻璃比色皿、可调节式移液枪及枪头
离心机
去离子水
匀浆器（如果是组织样本）

试剂准备

注意：各组分（小管试剂）开盖前，请先低速离心。

试剂一：即用型；使用前，平衡到室温；4℃保存。

试剂二：使用时，48T 加入 250uL 试剂一，96T 加入 500uL 试剂一，整个实验过程中，冰上放置；保存于-20℃。

试剂三：即用型；使用前，平衡到室温；4℃避光保存。

试剂四：即用型；使用前，平衡到室温；4℃保存。

标准曲线设置：按下表所示用去离子水将 20mM（20000nmol/mL）标准溶液稀释至 10000、5000、2500、1250、625、312.5、156.25nmol/mL 的标准液。

	标准品体积	去离子水体积（μL）	标准品浓度（nmol/mL）
Std. 1	50μL 20000nmol/mL	50	10000

产品说明书

Std. 2	50μL of Std. 1	50	5000
Std. 3	50μL of Std. 2	50	2500
Std. 4	50μL of Std. 3	50	1250
Std. 5	50μL of Std. 4	50	625
Std. 6	50μL of Std. 5	50	312.5
Std. 7	50μL of Std. 6	50	156.25

注意：每次实验，请使用新配制的标准品。

样本制备

动物组织：称取约 0.1g 组织，加入 1mL 试剂一冰浴匀浆，10,000g，4℃离心 10min，取上清液待测。

植物组织：称取约 0.1g 组织，加入 1mL 试剂一冰浴匀浆后超声波破碎 5min（功率 20%或 200W，超声 3s，间隔 7s，重复 30 次），10,000g，4℃离心 10min，取上清液待测。

细胞或细菌：收集 500 万细胞或细菌到离心管内，弃上清，加 1mL 试剂一，冰浴超声波破碎 5min（功率 20%或 200W，超声 3s，间隔 7s，重复 30 次），10,000g，4℃离心 10min，取上清液待测。

血清（浆）等液体样本：直接测定。

注意：推荐使用新鲜样本，如果不立即进行实验，样本可在-80℃保存 1 个月。如需测定蛋白浓度，推荐使用 BCA 法蛋白质定量试剂盒进行样本蛋白质浓度测定。

实验步骤

1. 酶标仪或可见分光光度计预热 30min 以上，调节波长至 540nm，去离子水调零；
2. 取约 300μL 样本，沸水浴 5min，然后 10,000g，25℃离心 10min，取清液作为对照孔的煮沸样本。
3. 样本测定（在 96 孔板或微量玻璃比色皿中依次加入下列试剂）：

试剂名称	空白孔（μL）	标准孔（μL）	测定孔（μL）	对照孔（μL）
待测样本	0	0	20	0
煮沸样本	0	0	0	20
不同浓度的标准品	0	20	0	0
去离子水	20	0	0	0
试剂一	40	40	40	44
试剂二	4	4	4	0

充分混匀，37℃反应 10min

试剂三	40	40	40	40
-----	----	----	----	----

充分混匀，37℃温育 10min

试剂四	160	160	160	160
-----	-----	-----	-----	-----

充分混匀，于 37℃温育 10min，测定 540nm 处各孔的吸光值 A。计算相对吸光值 $\Delta A_{\text{测}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ 、 $\Delta A_{\text{标}} = A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}$ 。（空白和标准曲线只需测一次）

注意：实验之前建议选择 2-3 个预期差异大的样本做预实验。如果 $\Delta A_{\text{测}}$ 小于 0.001 可适当加大样本量。如果 $\Delta A_{\text{测}}$ 大于 0.4，样本可用试剂一进一步稀释，计算结果乘以稀释倍数，或减少提取用样本量。

结果计算

产品说明书

1. 标准曲线的绘制

以标准液浓度为 y 轴， $\Delta A_{\text{标}}$ 为 x 轴，绘制标准曲线（浓度为 y 轴更方便计算结果）。将 $\Delta A_{\text{测}}$ 带入方程计算出 y (nmol/mL)。

2. 样本 FA 活性计算

(1) 按样本质量计算：

单位的定义：每 g 组织在反应体系中每分钟生成 1nmol 的 3-磷酸甘油醛定义为一个酶活力单位。

FBA 活性 (U/g 鲜重) = $y \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times W) \div T = 0.32y \div W$

(2) 按血清（浆）等液体体积计算：

单位的定义：每 mL 液体样本在反应体系中每分钟生成 1nmol 的 3-磷酸甘油醛定义为一个酶活力单位。

FBA 活性 (U/mL) = $y \times V_{\text{反总}} \div V_{\text{样}} \div T = 0.32y$

(3) 按照细菌或细胞数量计算：

单位的定义：每 1 万个细菌或细胞在反应体系中每分钟生成 1nmol 的 3-磷酸甘油醛定义为一个酶活力单位。

FBA 活性 (U/ 10^4 Cells) = $y \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times 500) \div T = 0.32y \div 500$

(4) 按样本蛋白浓度计算：

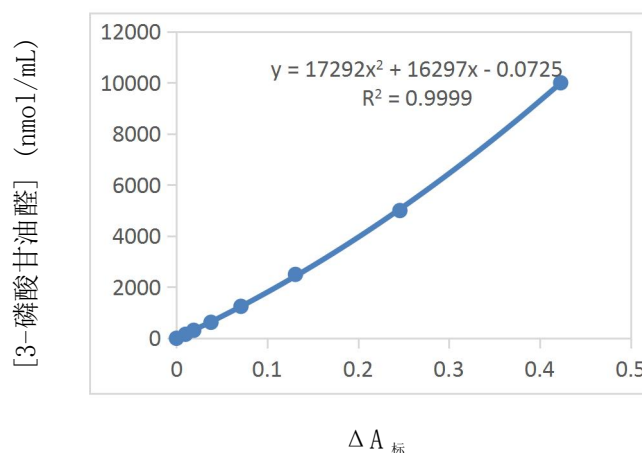
单位的定义：每 mg 组织蛋白在反应体系中每分钟生成 1nmol 的 3-磷酸甘油醛定义为一个酶活力单位。

FBA 活性 (U/mg prot) = $y \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \times C_{\text{pr}}) \div T = 0.32y \div C_{\text{pr}}$

$V_{\text{反总}}$ ：反应体系总体积，0.064mL； $V_{\text{样}}$ ：加入的样本体积，0.02mL； $V_{\text{样总}}$ ：样本总体积，1mL； W ：样本质量，g； T ：反应时间，10min；500：细菌或细胞数量，500 万； C_{pr} ：蛋白浓度，mg/mL。

结果展示

典型标准曲线-以下数据和曲线仅供参考，实验者需根据自己的实验建立标准曲线



注意事项

1. 实验过程中请穿戴实验服、口罩和乳胶手套。请按照生物实验室的国家安全规定进行实验，尤其是在检测血样或其他体液时。
2. 本试剂盒仅用于实验室科学研究，如果本试剂盒用于临床诊断或任何其他用途，我们将不对任何后果负责。
3. 本试剂盒应在有效期内使用，并请严格按照说明书进行存储。
4. 不同批次号、不同厂家之间的组分不要混用；否则，可能导致结果异常。
5. 勤换吸头，避免各组分之间的交叉污染。

相关产品：

- PMK1126 果糖-1, 6-二磷酸 (FDP) 检测试剂盒（微量法）
- PMK1116 丙酮酸 (PA) 检测试剂盒（微量法）
- PMK1120 己糖激酶 (HK) 检测试剂盒（微量法）
- PMK1121 FDP 激酶 (PK) 检测试剂盒（微量法）
- PMK1122 磷酸果糖激酶 (PFK) 检测试剂盒（微量法）
- PMK1123 磷酸烯醇式 FDP 羧化酶 (PEPC) 检测试剂盒（微量法）

更多产品详情了解，请关注公众号：

