



果糖-1,6-二磷酸酶（FBP）测定试剂盒说明书

（Fructose 1,6-bisphosphatase Assay Kit, 货号：A160-1-1；规格：50管/48样，紫外分光光度法）

【试剂组成】

试剂编号	规格	保存要求	备注
提取液	液体 60mLx1 瓶	4℃保存	
R1	粉剂 x1 支	4℃保存	用前甩几下或离心使试剂落入底部，再加 2.1mL 蒸馏水溶解备用
R2	粉剂 x1 支	-20℃保存	用前甩几下或离心使试剂落入底部，再加 2.1mL 蒸馏水溶解备用
R3	液体 2mLx1 支	4℃保存	
R4	液体 30mLx1 瓶	4℃保存	
R5	粉剂 x1 瓶	4℃保存	用前甩几下或离心使试剂落入底部，再加 4.2mL 蒸馏水溶解备用
R6	粉剂 x1 支	4℃保存	若重新做标曲，则用到该试剂

【产品简介】

果糖-1,6-二磷酸酶又称果糖 16-二磷酸酯酶 (FBP, EC 3.1.3.11), 是糖异生途径中的关键酶, 不同糖异生底物在多种酶的作用下转化为 1,6-二磷酸果糖, 之后在 FBP 催化下水解为 6-磷酸果糖和无机磷, 该酶的异常表达与某些疾病有密切关系。

本试剂盒提供一种简单, 灵敏, 快速的测定方法:FBP 催化 16-二磷酸果糖和水生成 6-磷酸果糖和无机磷, 与酶促复合物相互作用, 该过程中产生的 NADPH 紧接着与特异的显色探针反应生成有色物质, 通过检测该有色物质的增加速率, 进而计算出 FBP 酶活性大小。

【所需的仪器和用品】

可见分光光度计、1m 玻璃比色皿（光径 1cm）、恒温水浴锅、台式离心机、可调式移液器、研钵和蒸馏水。

【实验操作】

建议正式实验前选取 2 个样本做预测定, 了解本批样品情况, 熟悉实验流程, 避免实验样本和试剂浪费!

1、样本制备:

① 组织样本:

称取约 0.1g 样本, 加入 1mL 提取液进行冰浴匀浆, 于 4℃, 12000rpm 离心 10min, 取上清液测定。

【注】若增加样本量, 可按照组织质量(g):提取液体积(mL)为 1:5~10 的比例进行提取。

② 细菌 / 细胞样本:

先收集细菌或细胞到离心管内, 离心后弃上清;取 500 万细菌或细胞加入 1mL 提取液在 4℃或冰浴进行匀浆（或使用各类常见电动匀浆器）。4℃约 12,000rpm 离心 10min, 取上清待测。

【注】若增加样本量, 可按照细菌/细胞数量(10⁶):提取液(mL)为 500~1000:1 的比例进行提取。

2、上机检测:

① 可见分光光度计预热 30min 以上, 调节波长至 450nm, 设置温度 25℃, 蒸馏水调零。

② 试剂解冻至室温（25℃）。

③ 在 1m 玻璃比色皿（光径 1cm）中依次加入:

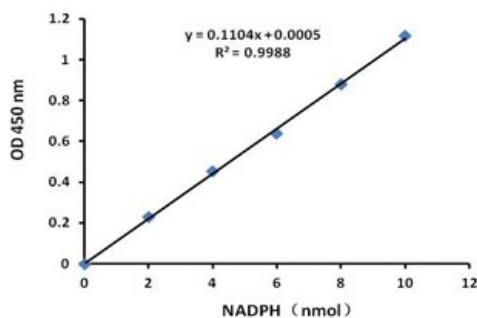


试剂名称(μL)	测定管
样本	40
R1	40
R2	40
R3	40
R4	500
轻轻混匀，室温（25℃）孵育 10min	
R5	80
混匀，于 450nm 处测定，1min 时读取 A1，15min 后读取 A2，AA=A2-A1。	

【注】若 AA 小于 0.01，可以延长反应时间 T（如增至 25min 后重新读取 A2），或增加 VI（如增至 100 μL，则 R4 相应减少），则改变后的 T 和 V1 需重新代入公式计算。

【结果计算】

1、标准曲线方程： $y = 0.0454x + 0.0026$ ，x 是标准品摩尔质量（nmol），y 是 AA。



2、按样本蛋白浓度计算：

酶活定义：每毫克组织蛋白每分钟催化产生 1nmol NADPH 定义为一个酶活性单位。

$$\text{FBP (nmol/minmg prot)} = [(\Delta A - 0.0026) - 0.0454] \div (V1 \times \text{Cpr}) - T = 36.7x (\Delta A - 0.0026) \div \text{Cpr}$$

3、按照样本鲜重计算：

酶活定义：每克组织每分钟催化产生 1nmol NADPH 定义为一个酶活力单位。

$$\text{FBP (nmol/min/g 鲜重)} = [(\Delta A - 0.0026) \div 0.0454] \div (W \times V1 - V) \div T = 36.7x (\Delta A - 0.0026) \div W$$

4、按细胞数量计算：

酶活定义：每 10^4 个细胞每分钟催化产生 1nmol NADPH 定义为一个酶活力单位。

$$\text{FBP (nmol/min/10}^4\text{cell)} = [(\Delta A - 0.0026) \div 0.0454] \div (500 \times V1 \div V) \div T = 36.7x (\Delta A - 0.0026) \div 500$$

V---加入提取液体积，ImL；

V1---加入样本体积，0.04mL；

T--反应时间，15min；

W---样本质量，g；

500---细胞数量，万；

Cpr---样本蛋白质浓度，mgmL；建议使用本公司的 BCA 蛋白含量检测试剂盒。

附：标准曲线制作过程：

1、制备标准品母液（1nmol/μl）：向标准品 EP 管里面加入 0.6mL 蒸馏水（母液需在两天内用且-20℃C 保存）。

2、把母液稀释成六个浓度梯度的标准品：0，0.2，0.4，0.6，0.8，1.0 nmol/μl。

3、40 μl 标准品+40 μl R3+160 μL 蒸馏水+500 μl R4，450nm 读取吸光值 A。根据结果即可制作标准曲线。