

CheKine™ 焦磷酸：果糖-6-磷酸-1-磷酸转移酶（PFP）活性检测试剂盒（微量法）

Cat #: KTB1334

Size: 48 T/48 S 96 T/96 S

	焦磷酸：果糖-6-磷酸-1-磷酸转移酶（PFP）活性检测试剂盒（微量法）		
REF	货号：KTB1334	LOT	批号：见产品标签
	适用样本：动植物组织、细胞、血清（浆）或其他液体		
	保质期：-20℃避光保存 6 个月		

原理

焦磷酸：果糖-6-磷酸-1-磷酸转移酶（PFP，EC2.7.1.90）是一种胞质酶，广泛存在于植物组织中，催化果糖-6-磷酸与果糖-1,6-二磷酸之间的可逆转化，在光合作用碳代谢中起重要作用。CheKine™ 焦磷酸：果糖-6-磷酸-1-磷酸转移酶（PFP）活性检测试剂盒（微量法）提供了一种简单、方便、快速的 PFP 活性检测方法，适用于动植物组织、细胞、血清（浆）或其他液体样本。其原理是 PFP 催化 6-磷酸果糖转化为 1,6-二磷酸果糖，它在醛缩酶和磷酸丙糖异构酶的作用下转变为 3-磷酸甘油醛，再由 3-磷酸甘油醛脱氢酶和 NADH 催化生成 3-磷酸甘油酸、NAD 和磷酸，340 nm 处的吸光度变化反映了 PFP 的活性的高低。

包装清单

试剂盒组分	规格		储存条件
	48 T	96 T	
Extraction Buffer	60 mL	60×2 mL	4℃
Reagent I	6 mL	12 mL	4℃，避光保存
Reagent II	Powder×1 vial	Powder×1 vial	-20℃，避光保存
Reagent III	Powder×1 vial	Powder×1 vial	-20℃，避光保存
Reagent IV	0.6 mL	1.2 mL	4℃，避光保存
Reagent V	0.6 mL	1.2 mL	4℃，避光保存
Reagent VI	1.2 mL	2.4 mL	4℃，避光保存

注意：正式检测前，建议选择 2-3 个预期差异较大的样本进行预实验。

自备耗材

- 酶标仪或紫外分光光度计（能测 340 nm 处的吸光度）
- 96 孔 UV 板或微量石英比色皿、可调节式移液枪及枪头
- 恒温水浴锅、分析天平、制冰机、低温离心机
- 去离子水
- 研钵或匀浆器

试剂准备

Extraction Buffer: 即用型；使用前，平衡到室温；4℃保存。

Reagent I: 即用型；使用前，平衡到室温；4℃避光保存。

注意: Extraction Buffer 有刺激性气味，Reagent I 有毒且有刺激性气味，建议在通风橱进行实验。

Working Reagent II: 临用前配制；48 T 加入 1.2 mL 去离子水，96 T 加入 2.4 mL 去离子水，充分溶解待用；用不完的试剂-20℃分装避光可保存 2 周，避免反复冻融。

Working Reagent III: 临用前配制；48 T 加入 1.2 mL 去离子水，96 T 加入 2.4 mL 去离子水，充分溶解待用；用不完的试剂-20℃分装避光可保存 2 周，避免反复冻融。

Reagent IV: 即用型；使用前，平衡到室温；4℃避光保存。

Reagent V: 即用型；使用前，平衡到室温；4℃避光保存。

Reagent VI: 即用型；使用前，平衡到室温；4℃避光保存。

样本制备

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 2 周。测定时，应控制解冻的温度和时间。室温环境下解冻时，需在 4 h 内完成样品解冻。

1. 动植物组织：称取约 0.1 g 样本，加入 1 mL Extraction Buffer，冰浴匀浆，10,000 g，4℃离心 10 min，取上清液，置冰上待测。
2. 细胞：收集 500 万细胞到离心管内，用冷 PBS 清洗细胞，离心后弃上清，加入 1 mL Extraction Buffer，冰浴超声波破碎细胞 5 min（功率 20%或 200 W，超声 3 s，间隔 7 s，重复 30 次），然后 10,000 g，4℃离心 10 min，取上清液，置冰上待测。
3. 血清（浆）等液体样本：直接检测。

注意: 如需测定蛋白浓度，推荐使用 Abbkine 货号：KTD3002 的蛋白质定量试剂盒（Bradford 法）进行样本蛋白质浓度测定。

实验步骤

1. 酶标仪或紫外分光光度计预热 30 min，调节波长到 340 nm。紫外分光光度计用去离子水调零。
2. 取微量石英比色皿或 96 孔 UV 板，依次加入 100 μL Reagent I，20 μL Reagent II，20 μL Reagent III，10 μL Reagent IV，10 μL Reagent V，20 μL Reagent VI，20 μL 粗酶液，充分混匀，记录 340 nm 处初始值 A₁ 和 15 min 的吸光值 A₂，计算 ΔA=A₁-A₂。

注意: 也可将 Reagent I、Reagent II、Reagent III、Reagent IV、Reagent V 和 Reagent VI 按上述比例，配制成工作液，现配现用；每次检测样本数不宜太多以免耽误过多的酶促反应时间。如果 ΔA 小于 0.01 可增大样本量或适当延长反应时间，计算结果中除以实际反应时间。如果 ΔA 大于 0.5，样本上清液可用去离子水进一步稀释，计算结果乘以稀释倍数。

结果计算

注意: 我们为您提供的计算公式，包括推导过程计算公式和简洁计算公式。两者完全相等。建议以加粗的简洁计算公式为最终计算公式。

A. 使用 96 孔 UV 板测定的计算公式如下

1. 按样本蛋白浓度计算：

单位的定义：每 mg 组织蛋白每分钟消耗 1 nmol NADH 定义为一个酶活力单位。

$$\text{PFP (U/mg prot)} = [\Delta A \times V_{\text{反应}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (C_{\text{pr}} \times V_{\text{样}}) \div T = 117.89 \times \Delta A \div C_{\text{pr}}$$

2. 按样本鲜重计算：

单位的定义：每 g 组织每分钟消耗 1 nmol NADH 定义为一个酶活力单位。

$$\text{PFP (U/g 鲜重)} = [\Delta A \times V_{\text{反应}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 117.89 \times \Delta A \div W$$

3. 按细胞数量计算：

单位的定义：每 10⁴ 细胞每分钟消耗 1 nmol NADH 定义为一个酶活力单位。

$$\text{PFP (U/10}^4\text{)} = [\Delta A \times V_{\text{反应}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (N \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 117.89 \times \Delta A \div N$$

4. 按液体体积计算：

单位的定义：每 mL 样本每分钟消耗 1 nmol NADH 定义为一个酶活力单位。

$$\text{PFP (U/mL)} = [\Delta A \times V_{\text{反应}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div V_{\text{样}} \div T = 117.89 \times \Delta A$$

$V_{反总}$: 反应体系总体积, 2.2×10^{-4} L; ϵ : NADH 摩尔消光系数, 6.22×10^3 L/mol/cm; d : 96 孔 UV 板光径, 0.5 cm; 10^9 : $1 \text{ mol} = 1 \times 10^9 \text{ nmol}$; C_{pr} : 样本蛋白质浓度, mg/mL; T : 反应时间, 15 min; $V_{样}$: 加入反应体系中样本体积, 0.04 mL; $V_{样总}$: 加入 Extraction Buffer 体积, 1 mL; W : 样本质量, g; N : 细胞总数, 10^4 。

B. 使用微量石英比色皿测定的计算公式

将上述计算公式中光径 d : 0.5 cm 调整为 d : 1 cm 进行计算即可。

注意事项

1. 实验时，样本上清和试剂均在冰上放置，以免变性和失活。

结果展示

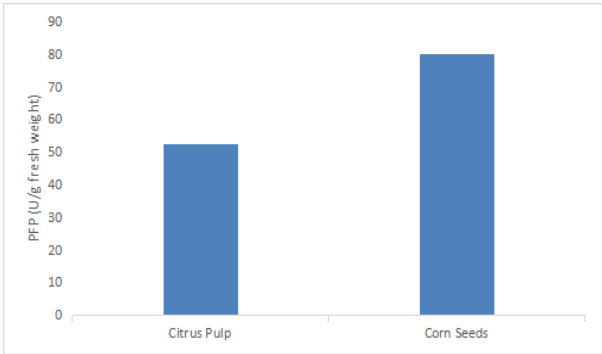


Figure 1. 本试剂盒测定柑橘果肉和玉米种子中 PFP 的活性

相关产品

Catalog No.	Product Name
KTB1015	CheKine™ α-葡萄糖苷酶活性检测试剂盒（微量法）
KTB1121	CheKine™ 丙酮酸（PA）含量检测试剂盒（微量法）

免责声明

本产品仅供科学研究使用，不适用于临床诊断。为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

