

CheKine™ 果糖-1,6-二磷酸 (FDP) 含量检测试剂盒 (微量法)

货号: KTB1328

规格: 48 T/48 S

96 T/96 S

批号: 见产品标签

	适用样本: 动植物组织、细胞、血清 (浆)
	保质期: -20℃, 避光保存 6 个月

01 背景与原理

果糖-1,6-二磷酸 (Fructose-1,6-diphosphate, FDP) 是糖酵解过程中的一种重要的中间产物, 对多种酶具有调节作用, 具有改善细胞能量代谢、增加能量利用、抗心律失常及抗组织过氧化等作用, 广泛应用于临床医药。

本试剂盒检测原理是醛缩酶催化果糖 1,6-二磷酸裂解, 产物与 2,4-二硝基苯肼在酸性介质中反应生成 2,4-二硝基苯腙, 在碱性溶液中呈红棕色, 在 540 nm 处有特征吸收峰。

02 包装清单

试剂盒组分	规格		储存要求
	48 T	96 T	
Reagent I	65 mL	65×2 mL	4℃
Reagent II	Powder×1 vial	Powder×1 vial	4℃, 避光保存
Reagent III	2.8 mL	5.6 mL	4℃, 避光保存
Reagent IV	11.2 mL	22.4 mL	4℃
Standard	Powder×1 vial	Powder×1 vial	-20℃, 避光保存

*请在实验前检查各组分的量。

*各组分在规格基础上额外提供 10% 的量用于进行标准曲线制作或预实验。

03 自备仪器与试剂

自备资源类型	资源名称	备注
仪器	酶标仪	能测 540 nm 处的吸光度
耗材	96 孔酶标板	普通透明板
试剂	去离子水	试剂配制用
其他	匀浆器或研钵（组织样本）、恒温箱、制冰机、低温离心机、可调节式移液枪及枪头	检测量较大时合理使用多通道移液器有助于提高实验效率

04 注意事项

- 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。
- 对于组织样本及细胞样本等，可通过测定蛋白浓度来进行样本间结果均一化。推荐使用亚科因货号：KTD3001 的蛋白质定量试剂盒（BCA 法）。
- 本试剂盒兼容分光光度计检测，请按照分光光度计检测要求按比例调节检测试剂配制量。如有疑问，可咨询 本司技术人员（400-6800-830）。
- 建议实验者自行建立标准曲线以提高结果准确度。如未自行建立标准曲线，可参考结果展示部分的典型标准曲线公式进行结果计算。
- 生化检测试剂普遍具有刺激性、生物毒性等，为了您的安全和健康，请在实验全程做好生物安全防护，穿戴实验服、口罩、手套、头套等安全护具，在通风橱、生物安全柜中进行实验。
- 本产品仅供科学研究使用，不适用于临床诊断。

05 实验流程

05-1 试剂准备

05-1-1 试剂准备

试剂名称	试剂准备	注意事项
Reagent I	即用型；使用前平衡到室温	4℃保存
Working Reagent II	临用前配制；48 T 加入 0.28 mL 去离子水，96 T 加入 0.56 mL 去离子水，充分溶解待用	未用完的试剂 4℃避光保存可稳定 1 个月
Reagent III	即用型；使用前平衡到室温	4℃避光保存；Reagent III有毒，建议在通风橱进行实验
Reagent IV	即用型；使用前平衡到室温	4℃保存
1 mg/mL Standard	临用前配制；加入 1 mL 去离子水充分溶解，配制成 1 mg/mL 果糖-1, 6-二磷酸标准品	未用完的试剂 4℃避光保存可稳定 1 个月

05-1-2 标准品配制

使用 1 mg/mL 果糖-1, 6-二磷酸标准品, 按照下表所示, 进行下一步稀释。每次实验都要做一次标准品检测, 制作标曲; 稀释后的标准品溶液不稳定, 必须在 4 小时内使用。

序号	标准品 (μL)	去离子水体积 (μL)	浓度 (μg/mL)
1	100 μL of 1 mg/mL	100	500
2	100 μL of 500 μg/mL	100	250
3	100 μL of 250 μg/mL	100	125
4	100 μL of 125 μg/mL	100	62.5
5	100 μL of 62.5 μg/mL	100	31.25
6	100 μL of 31.25 μg/mL	100	15.625
7	100 μL of 15.625 μg/mL	100	7.8125
空白	0	200	0

05-2 样本制备

注意: 推荐使用新鲜样本。样本尽量新鲜提取, 如果不能当天提取, 则把完整细胞或者分装的组织块保存在-80℃, 一个月内使用。

- **动植物组织:** 称取约 0.1 g 样本, 加入 1 mL Reagent I, 冰浴匀浆。10000 g, 4℃离心 10 min, 取上清液, 置冰上待测。
- **细胞:** 收集 5×10^6 个细胞到离心管内, 用预冷的 PBS 清洗细胞, 800 g 离心 2 min, 弃上清。加入 1 mL Reagent I, 进行冰浴超声破碎。超声波破碎 5 min (功率 20%或 200 W, 超声 3 s, 间隔 7 s, 重复 30 次), 然后 10000 g, 4℃离心 10 min, 取上清液, 置于冰上待测。
- **血清 (浆):** 直接检测。

05-3 实验步骤

- 1. 酶标仪准备：预热 30 min 以上，调节波长到 540 nm。
- 2. Working Reagent 的配制：临用前配制；根据用量每孔分别加入 40 μL Reagent I 和 4 μL Reagent II，充分混匀待用，按需配制，现配现用。
- 3. 检测体系配制：空白管和标准管只需做 1-2 次。在 96 孔板中按照如下方式操作：

试剂	空白孔 (μL)	标准孔 (μL)	测定孔 (μL)
样本	0	0	20
Standard	0	20	0
去离子水	20	0	0
Reagent I	44	0	0
Working Reagent	0	44	44
充分混匀，37℃反应 30 min			
Reagent III	40	40	40
充分混匀，37℃反应 10 min			
Reagent IV	160	160	160

4. 吸光度检测：充分混匀，37℃反应 10 min，测定 540 nm 处吸光值，空白孔记为 A_{空白}，标准孔记为 A_{标准}，测定孔记为 A_{测定}。

06 结果计算

06-1 自动计算

为帮助您更轻松、准确地完成相关计算，我们特在官网提供了“在线计算器小工具”。您无需手动计算，只需在网页上输入数值，即可快速获得可靠结果。访问方式：请扫描右侧二维码或访问官网[\[https://www.abbkine.cn\]](https://www.abbkine.cn) > 进入“技术中心”> 查找“在线计算器”工具。



06-2 手动计算

以下为您提供的推导过程计算公式和简洁计算公式，两者完全相等。

1. 数据处理

计算 $\Delta A_{测定} = A_{测定} - A_{空白}$ ， $\Delta A_{标准} = A_{标准} - A_{空白}$ 。

2. 标准曲线绘制

以标准溶液浓度为 y 轴， $\Delta A_{标准}$ 为 x 轴，绘制标准曲线。将 $\Delta A_{测定}$ 带入方程得到 y 值(μg/mL)。

3. 样本 FDP 含量的计算

- 按样本质量计算

$$FDP (\mu g/g) = (y \times V_{样}) \div (W \times V_{样} \div V_{样总}) \times n = y \div W \times n$$

- 按样本蛋白浓度计算：

$$FDP (\mu g/mg \text{ prot}) = (y \times V_{样}) \div (V_{样} \times Cpr) \times n = y \div Cpr \times n$$

- 按细胞数量计算

$$FDP (\mu g/10^4) = (y \times V_{样}) \div (N \times V_{样} \div V_{样总}) \times n = y \div N \times n$$

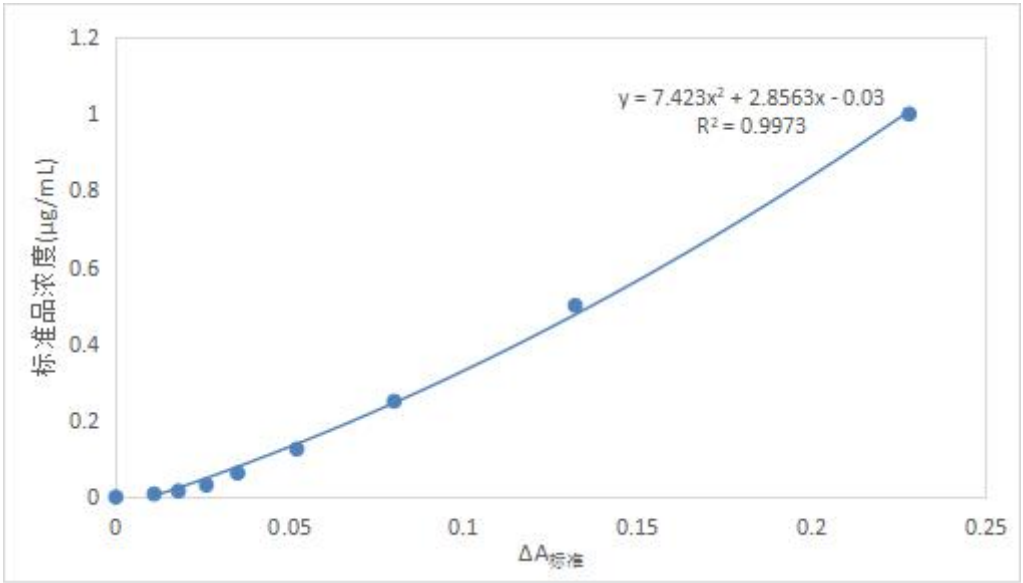
- 按样本体积计算

$$FDP (\mu g/mL) = (y \times V_{样}) \div V_{样} \times n = y \times n$$

$V_{\text{样}}$: 加入反应体系中样本体积, 0.02 mL; $V_{\text{样总}}$: 加入 Reagent I 体积, 1 mL; C_{pr} : 样本蛋白质浓度, mg/mL; W : 样本重量, g; N : 以 10^4 为单位 (例如细胞数量为 5×10^6 , $N=500$); n : 稀释倍数。

07 结果展示

典型标准曲线: $y = 7.423x^2 + 2.8563x - 0.03$, $R^2 = 0.9973$



示例-1: 取 0.116 g 兔肝脏, 按照测定步骤操作, 用 96 孔板进行检测。测得 $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}} = 0.231 - 0.072 = 0.159$, 代入标准曲线, 计算 $y = 0.612$, 按样本质量计算得: $\text{FDP}(\mu\text{g/g}) = y \div W \times n = 5.276 \mu\text{g/g}$ 。

08 FAQ

- 检测得到的样本 $\Delta A_{\text{测定}}$ 过高或者过低怎么办?
如果 $\Delta A_{\text{测定}}$ 小于 7.8125 $\mu\text{g/mL}$ 标准品的 $\Delta A_{\text{标准}}$ 值, 可适当加大样本量。如果 $\Delta A_{\text{测定}}$ 高于 500 $\mu\text{g/mL}$ 标准品的 $\Delta A_{\text{标准}}$ 值, 样本可用 Reagent I 进一步稀释, 计算结果乘以稀释倍数, 或减少提取用样本量, 再重新进行测定。

09 相关产品

货号	试剂盒名称
KTB1410	CheKine™ 谷丙转氨酶 (ALT/GPT) 活性检测试剂盒 (微量法)
KTB1420	CheKine™ 谷草转氨酶 (AST/GOT) 活性检测试剂盒 (微量法)
KTB1430	CheKine™ 脯氨酸 (PRO) 含量检测试剂盒 (微量法)

CheKine™ 果糖-1,6-二磷酸（FDP）含量检测流程示意图

(Abbkinine 货号：KTB1328)

