

CheKine™ 果糖-1,6-二磷酸酯酶 (FBP) 活性检测试剂盒 (微量法)

货号: KTB1331

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
	保质期: -20℃, 避光保存 6 个月

01 背景与原理

果糖-1,6-二磷酸酶 (Fructose 1,6-bisphosphatase, FBP, EC 3.1.3.11) 又称果糖-1,6-二磷酸酯酶, 其在糖异生过程和光合作用同化物蔗糖的合成中起关键性的作用。催化 1,6-二磷酸果糖和水生成 6-磷酸果糖和无机磷。

本试剂盒检测原理是 FBP 催化 1,6-二磷酸果糖和水, 生成 6-磷酸果糖和无机磷, 在反应体系中添加的磷酸葡萄糖异构酶和 6-磷酸葡萄糖脱氢酶依次催化生成 6-磷酸葡萄糖酸和 NADPH, 测定 340 nm 下 NADPH 的增加速率, 即可计算 FBP 活性。

02 包装清单

试剂盒组分	规格		储存要求
	48 T	96 T	
Extraction Buffer	60 mL	60×2 mL	4℃
Reagent I	Powder×1 vial	Powder×1 vial	-20℃, 避光保存
Reagent II	4.32 μL	8.64 μL	4℃, 避光保存
Reagent III	Powder×1 vial	Powder×1 vial	-20℃, 避光保存
Reagent IV	12.5 mL	25 mL	4℃

*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 340 nm 处的吸光度
耗材	96 孔酶标板	UV 板
试剂	PBS、去离子水	清洗样本/配制试剂用
其他	匀浆器（组织样本）、超声破碎仪、恒温箱、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：KTD3002 的蛋白质定量试剂盒（Bradford 法）。
- 该试剂盒提取的样本也可以适用于 KTB1001 的测定。
- 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）。
- 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
Extraction Buffer	即用型；使用前平衡到室温	4℃保存；有刺激性气味，建议在通风橱进行实验
Working Reagent I	临用前配制；48 T 加入 10 mL Reagent IV，96 T 加入 20 mL Reagent IV，充分溶解	未用完的试剂-20℃避光分装保存 1 个月，避免反复冻融
Working Reagent II	临用前配制；48 T 加入 0.6 mL 去离子水，96 T 加入 1.2 mL 去离子水，充分溶解	未用完的试剂-20℃避光分装保存 1 个月，避免反复冻融
Working Reagent III	临用前配制；取一管加入 1.2 mL 去离子水，充分溶解	未用完的试剂-20℃避光分装保存 1 个月，避免反复冻融
Reagent IV	即用型；使用前平衡到室温	4℃保存

05-2 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 **1** 个月。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。

- **动植物组织**：称取约 0.1 g 样本，加入 1 mL Extraction Buffer，冰浴匀浆，8000 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，用冷 PBS 清洗细胞，800 g 离心 2 min，弃上清液。加入 1 mL Extraction Buffer，冰浴超声波破碎细胞 30 次（功率 20%或 200 W，超声 3 s，间隔 7 s），然后 8000 g，4℃离心 10 min，取上清液，置冰上待测。

05-3 实验步骤

1. **酶标仪准备**：预热 30 min 以上，调节波长到 340 nm。
2. **Working Reagent I、Working Reagent II 和 Working Reagent III**置于 25℃（其它物种）或者 37℃（哺乳动物）孵育 10 min。
3. **检测体系配制**：在 96 孔 UV 板中按照如下方式依次操作：

试剂	空白孔（μL）	测定孔（μL）
样本	0	20
Extraction Buffer	20	0
Working Reagent II	10	10
Working Reagent III	10	10
Working Reagent I	160	160

4. **吸光度检测**：充分混匀，记录 340 nm 处 10 s 时的吸光值 A_1 ，37℃反应 5 min 后记录 310 s 时的吸光值 A_2 。测定孔记为 $A_{\text{测定}}$ ，空白孔记为 $A_{\text{空白}}$ 。

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 $\Delta A_{\text{空白}} = A_{2\text{空白}} - A_{1\text{空白}}$ ， $\Delta A_{\text{测定}} = A_{2\text{测定}} - A_{1\text{测定}}$ ， $\Delta\Delta A_{\text{测定}} = \Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}$ 。

2. 样本 FBP 活力的计算：

- 按样本鲜重计算：

单位的定义：每克样本每分钟生成 1 nmol NADPH 定义为一个酶活力单位。

$$\text{FBP (U/g)} = [\Delta\Delta A_{\text{测定}} \times V_{\text{反应}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 643 \times \Delta\Delta A_{\text{测定}} \div W$$

- 按细胞数量计算

单位的定义：每 10^4 细胞每分钟生成 1 nmol NADPH 定义为一个酶活力单位。

$$\text{FBP (U/10}^4 \text{ cell)} = [\Delta\Delta A_{\text{测定}} \times V_{\text{反应}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (N \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 643 \times \Delta\Delta A_{\text{测定}} \div N$$

- 按蛋白浓度计算

单位的定义：每 mg 蛋白每分钟生成 1 nmol 的 NADPH 定义为一个酶活力单位。

$$\text{FBP (U/mg prot)} = [\Delta\Delta A_{\text{测定}} \times V_{\text{反应}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (V_{\text{样}} \times \text{Cpr}) \div T = 643 \times \Delta\Delta A_{\text{测定}} \div \text{Cpr}$$

$V_{\text{反应}}$ ：反应体系总体积， 2×10^{-4} L； ϵ ：NADPH 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 mol= 10^9 nmol； $V_{\text{样}}$ ：加入样本体积，0.02 mL； $V_{\text{样总}}$ ：加入 Extraction Buffer 体积，1 mL；T：反应时间，5 min；Cpr：样本蛋白质浓度，mg/mL；W：样本质量，g；N：细胞数量，以 10^4 为单位（例如细胞数量为 5×10^6 ，N=500）。

07 结果展示

示例-1: 取 0.104 g 兔肝, 按照测定步骤操作, 用 96 孔 UV 板进行检测。测得 $\Delta A_{\text{空白}} = A_{2\text{空白}} - A_{1\text{空白}} = 0.096 - 0.096 = 0$, $\Delta A_{\text{测定}} = A_{2\text{测定}} - A_{1\text{测定}} = 1.187 - 0.713 = 0.474$, $\Delta\Delta A_{\text{测定}} = \Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}} = 0.474$ 。按样本鲜重计算得: FBP (U/g) = $643 \times \Delta\Delta A_{\text{测定}} \div W = 2930.6$ U/g。

08 FAQ

- 检测得到的样本 $\Delta\Delta A_{\text{测定}}$ 过高或者过低怎么办?

如果样本 $\Delta\Delta A_{\text{测定}} > 0.6$, 样本需用 Extraction Buffer 适当稀释, 再重新测定, 或减少提取用样本量。如果样本的 $\Delta\Delta A_{\text{测定}} < 0.005$, 可适当提高样本量。若 $\Delta\Delta A_{\text{测定}}$ 出现负值, 则说明样本中不含 FBP 或已降解。

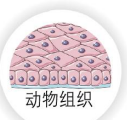
09 相关产品

货号	试剂盒名称
KTB3030	CheKine™ 乙醇脱氢酶 (ADH) 活性检测试剂盒 (微量法)
KTB1560	CheKine™ 酰基转移酶 (AAT) 活性检测试剂盒 (微量法)
KTB1270	CheKine™ 丙酮酸脱氢酶 (PDH) 活性检测试剂盒 (微量法)

CheKine™ 果糖-1,6-二磷酸酯酶（FBP）活性检测流程示意图

(Abbkin 货号：KTB1331)

样本处理



1 mL Extraction Buffer
冰浴匀浆后超声波破碎30次（
功率20%或200 W，超声3 s，
间隔7 s）

收集清洗的细胞
1 mL Extraction Buffer
冰浴超声破碎30次（功率20%或
200 W，超声3 s，间隔7 s）



8000 g，4℃离心10 min，取上清



体系配置

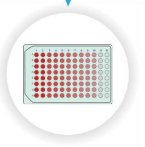


样本 20 μL
Working Reagent II 10 μL
Working Reagent III 10 μL
Working Reagent I 160 μL



Extraction Buffer 20 μL
Working Reagent II 10 μL
Working Reagent III 10 μL
Working Reagent I 160 μL

数据检测



充分混匀，测定340 nm 10 s和37℃反应5 min后的吸光度
结果计算