

CheKine™ 果糖-1,6-二磷酸醛缩酶 (FBA) 活性检测试剂盒 (微量法)

货号: KTB1332

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、真菌、血清 (浆) 或其他液体
	保质期: 4℃, 保存 12 个月

01 背景与原理

果糖 1,6-二磷酸醛缩酶 (Fructose 1,6 bisphosphate aldolase, FBA) (EC.4.1.2.13) 是糖酵解、糖异生、磷酸戊糖途径及光合作用中参与 calvin 循环的重要酶, 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, 广泛存在于动植物及微生物体内, 在各种逆境胁迫下表现不同的响应。

本试剂盒检测原理是 FBA 催化果糖 1,6-二磷酸生成 3-磷酸甘油醛和磷酸二羟丙酮, 在磷酸丙糖异构酶和 α -磷酸甘油脱氢酶作用下催化 NADH 和磷酸二羟丙酮生成 NAD 和 α -磷酸甘油, 340 nm 处吸光值的变化可反映 FBA 活性的高低。

02 包装清单

试剂盒组分	规格		储存要求
	48 T	96 T	
Extraction Buffer	60 mL	120 mL	4℃
Reagent I	6 mL	12 mL	4℃
Reagent II	3 mL	6 mL	4℃

*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
仪器与耗材	酶标仪、96 孔酶标板	能测 340 nm 处的吸光度、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：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）。
- 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
Reagent I	即用型；使用前平衡到室温	4℃保存
Reagent II	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，冰浴匀浆后 13000 g，4℃离心 10 min，取上清液，置冰上待测。
- **细胞或真菌**：收集 5×10^6 个细胞或真菌，用冷 PBS 清洗细胞或真菌，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或真菌 30 次（功率 20% 或 200 W，超声 3 s，间隔 7 s），然后 13000 g，4℃离心 10 min，取上清液，置冰上待测。
- **血清（浆）等液体样本**：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 340 nm。
2. **Working Reagent 配制**：按照每孔 100 μ L 的 Reagent I 与 50 μ L 的 Reagent II 进行预混，现用现配。
3. **检测体系配制**：在 96 孔 UV 板中按照如下方式操作：

试剂	空白孔 (μ L)	测定孔 (μ L)
去离子水	20	0
样本	0	20
Working Reagent	150	150

4. **吸光度检测**：充分混匀，37℃反应，记录 340 nm 处 3 min 时的吸光值 A_1 以及 5 min 时的吸光值 A_2 。测定

孔记为 $A_{\text{测定}}$ ，空白孔记为 $A_{\text{空白}}$ 。

注：若待测样本数量较多，建议使用排枪加入 Working Reagent 或分批检测，保证 Working Reagent 加液时间不超过 3min。

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

2. 样本 FBA 活力的计算：

● 按样本质量计算：

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

$$\text{FBA (U/g)} = [\Delta\Delta A_{\text{测定}} \times V_{\text{反应}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 1366.56 \times \Delta\Delta A_{\text{测定}} \div W$$

● 按细胞或真菌数量计算

单位的定义：每 1 万个细胞或真菌每分钟消耗 1 nmol 的 NADH 定义为一个酶活力单位。

$$\text{FBA (U/10}^4\text{)} = [\Delta\Delta A_{\text{测定}} \times V_{\text{反应}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (N \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 1366.56 \times \Delta\Delta A_{\text{测定}} \div N$$

● 按液体体积计算

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

$$\text{FBA (U/mL)} = [\Delta\Delta A_{\text{测定}} \times V_{\text{反应}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 1366.56 \times \Delta\Delta A_{\text{测定}}$$

● 按蛋白浓度计算

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

$$\text{FBA (U/mg prot)} = [\Delta\Delta A_{\text{测定}} \times V_{\text{反应}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (V_{\text{样}} \times \text{Cpr}) \div T = 1366.56 \times \Delta\Delta A_{\text{测定}} \div \text{Cpr}$$

$V_{\text{反应}}$ ：反应体系总体积， 1.7×10^{-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 mol = 10^9 nmol； $V_{\text{样}}$ ：加入样本体积，0.02 mL； $V_{\text{样总}}$ ：加入提取液体积，1 mL； T ：反应时间，2 min； Cpr ：样本蛋白质浓度，mg/mL； W ：样本质量，g； N ：细胞或真菌数量，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 0.105 g 兔肝脏，按照测定步骤操作，用 96 孔 UV 板进行检测。测得 $\Delta A_{\text{空白}} = A_{1\text{空白}} - A_{2\text{空白}} = 1.526 - 1.523 = 0.003$ ， $\Delta A_{\text{测定}} = A_{1\text{测定}} - A_{2\text{测定}} = 1.534 - 1.361 = 0.173$ ， $\Delta\Delta A_{\text{测定}} = \Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}} = 0.173 - 0.003 = 0.170$ 。按样本质量计算得：FBA (U/g) = $1366.56 \times \Delta\Delta A_{\text{测定}} \div W = 2212.5$ U/g。

08 FAQ

● 检测的样本酶活过高怎么判断？

如果样本 $A_{1\text{测定}} < 0.5$ ，样本 FBA 酶活可能过高，NADH 被消耗的速度过快，需用 Extraction Buffer 适当稀释，再重新测定，或减少提取用样本量。

● 检测的样本酶活过低怎么办？

如果样本的 $A_{1\text{测定}} > 1.0$ 且 $\Delta\Delta A_{\text{测定}} < 0.005$ ，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 FBA 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-1,6-二磷酸醛缩酶（FBA）活性检测流程示意图

(Abbkin 货号：KTB1332)

