上海源叶生物科技有限公司
Shanghai yuanye Bio-Technology Co.， Ltd
电话：021-61312973　传真：021-55068248
网址：www.shyuanye.com
邮箱：shyysw@sina.com

植物果糖-1,6-二磷酸酶(FBP)活性检测试剂盒 分光法

货号：R33144

规格：48T

保存温度：-20℃保存，有效期 3 个月。

产品简介：

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，有两种类型 FBPase 存在于光合细胞中。胞质型 FBP 主要存在于细胞质，参与蔗糖合成和糖异生途径；叶绿体型 FBP 存在于叶绿体中，它在二氧化碳同化途径中发挥调节作用。

FBP 催化 1,6 二磷酸果糖和水生成 6 磷酸果糖和无机磷，接着与酶促复合物相互作用，伴随着 NADPH 的生成，通过检测 NADPH 在 340nm 处的增加速率，进而计算出 FBP 酶活性大小。

产品组成：

试剂名称	规格	保存要求	备注
提取液一	液体 60mL×1 瓶	2-8℃保存	
提取液二	液体 60mL×1 瓶	2-8℃保存	
试剂一	粉末×1 支	2-8℃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。
试剂二	粉末×1 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。
试剂三	液体 30mL×1 瓶	2-8℃保存	
试剂四	粉末×1 瓶	2-8℃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。

使用方法：

建议正式实验前，选取 2 个样本做预测定，了解实验样品情况，熟悉流程，避免样本和试剂浪费！

一、样本准备：

1. 总 FBP 酶提取：

(a) 称取约 0.1g 样本，加入 1mL 提取液二，进行冰浴匀浆；

(b) 13000rpm，4℃离心 5min，取上清待测。

2. 胞浆和叶绿体 FBP 酶的分离：

(a) 称取约 0.2g 样本，加入 1mL 提取液一，进行冰浴匀浆；

(b) 1600rpm，4℃离心 5min，弃沉淀，取上清；

(c) 5000rpm，再次 4℃离心 15min，取上清用于测定胞浆 FBP 酶活性；

(d) 取沉淀加 1mL 提取液二，强力涡旋震荡 15s，置于冰上(或冰箱)孵育 15min；

(e) 13000rpm 离心 5min，取上清测定叶绿体中 FBP 酶活性。

【注】：整个叶绿体的提取过程须保持 4℃低温环境。建议测定总 FBP 酶活性，按照步骤 1 提取粗酶液，若需要分别测定胞浆和叶绿体中的 FBP，则按照步骤 2 提取粗酶液。

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

二、样品测定：

1. 紫外分光光度计预热 30min，设定波长到 340nm，设置温度 25℃，蒸馏水调零。

2. 所有试剂解冻至室温（25℃）。

3. 在 1mL 石英比色皿（光径 1cm）中依次加入：

试剂名称 (μL)	测定管
样本	40
试剂一	40
试剂二	40
试剂三	500
轻轻混匀，室温（25℃) 孵育 10min	
试剂四	80
混匀，于 340nm 处测定，1min 时读取 A1，10min 后读取 A2 ，ΔA=A2-A1。	

【注】：若ΔA 在零附近徘徊，可以延长至 20min 后重新读取 A2，或则增加样本量 V1（如增至 80μL，则试剂三相应减少），则改变后的反应时间 T 或样本量 V1 需重新代入计算公司计算。

三、结果计算

1．按样本蛋白蛋白浓度计算：

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。

FBP(nmol/min /mg prot)=[ΔA×V2÷(ε×d)×10^{9}]÷(V1×Cpr) ÷T =281.4×ΔA÷Cpr

2．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。

FBP(nmol/min /g 鲜重)=[ΔA×V2÷(ε×d)×10^{9}]÷(W×V1÷V)÷T =281.4×ΔA÷W

V--提取液体积，1 mL

V1--加入样本体积，0.04mL

d--光径，1cm

V2--反应体系总体积，7×10^{-4} L

ε--NADH 摩尔消光系数，6.22×10^{3} L/ mol/cm

W--样本质量，g

T--反应时间，10min

Cpr--蛋白浓度（mg/mL）

注意事项：

1、 本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品。

2、 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。