Fructose-1,6-bisphosphate aldolase Activity Assay Kit

植物果糖 1,6-二磷酸醛缩酶（FBA）试剂盒说明书

货号：G0603W48 | 方法：微板法 | 规格：48 样

一、产品简介：

植物中的果糖 1,6- 二磷酸醛缩酶(Fructose-1,6-Bisphosphate Aldolase, FBA) 是卡尔文循环(Calvin)中重要的酶，是控制光合作用速率的重要酶之一。在植物中有两种在结构上有一定同源性的果糖 1, 6-二磷酸醛缩酶的异构型,即叶绿体型和胞质型。

FBA 可催化果糖 1,6-二磷酸生成 3-磷酸甘油醛和磷酸二羟丙酮，在酶促复合物的相继作用下催化 NADH 和磷酸二羟丙酮生成 NAD 和α-磷酸甘油，检测 340nm 处 NADH 的下降速率即可得出 FBA 活性的高低。

二、试剂盒的组成和配制：

试剂名称	规格	保存要求	备注
提取液一	液体 60mL×1 瓶	4℃保存	
提取液二	液体 60mL×1 瓶	4℃保存	
试剂一	液体μL×1 支	-20℃保存	用前甩几下或离心使试剂落入底部，再加 0.6mL 蒸馏水溶解备用。用不完的液体试剂可分装后-20℃保存，尽量避免反复冻融。
试剂二	粉剂 mg×2 支	-20℃保存	用前甩几下或离心使试剂落入底部，每支加 0.3mL 蒸馏水溶解，用不完的试剂分装后-20℃保存，禁止反复冻融，三天内用完。
试剂三	液体μL×1 支	-20℃保存	用前甩几下或离心使试剂落入底部，再加 0.6mL 蒸馏水溶解备用。用不完的液体试剂可分装后-20℃保存，尽量避免反复冻融。
试剂四	液体 8mL×1 瓶	4℃保存	
试剂五	粉剂 mg×1 支	4℃保存	用前甩几下或离心使试剂落入底部，再加 1.2mL 蒸馏水溶解备用。

三、所需的仪器和用品：

酶标仪、96 孔板、可调式移液器、天平、震荡仪、水浴锅、低温离心机、研钵。

四、植物果糖 1,6-二磷酸醛缩酶（FBA）活性测定：

1、样本制备：

① 总FBA酶提取：建议称取约0.1g样本，加入1mL提取液二进行冰浴匀浆，于4℃，13000rpm离心5min，取上清液测定。

② 胞浆和叶绿体FBA酶的分离：

称取约0.2g样本，加入1mL提取液一，快速冰浴匀浆后于4℃，1600rpm离心5min，弃沉淀，取上清再4℃，5000rpm离心15min，取上清用于测定胞浆FBA酶活性，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，在4℃，13000rpm离心5min，取上清测定叶绿体中FBA酶活性。提示：整个叶绿体的提取过程须保持4℃低温环境。

建议测定总FBA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FBA，则按照步骤②提取粗酶液。

【注】：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

For research use only. Not for use in diagnostic or therapeutic procedures.
本产品仅供科研使用，不得用于临床诊断或治疗。

2、上机检测：

① 酶标仪预热 30min，调节波长至 340nm，设定温度 25℃。

② 试剂解冻至室温（25℃），或可放在 25℃条件下水浴 5-15min。

③ 试剂一和二和三和四和五可按照 10:10:10:130:20 比例配成混合液（一枪加 180μL 该混合液）（**该混合液用多少配多少，现配现用**）。

④ 在 96 孔板中依次加入：

试剂名称（μL）	测定管
样本	20
试剂一	10
试剂二	10
试剂三	10
试剂四	130
试剂五	20
轻轻混匀，室温（25℃）条件下，于 340nm 处测定，2min 时读取 A1，15min 后读取 A2，ΔA=A1-A2。	

注意：本操作流程适用于绝大多数常规样本检测，实验条件可根据实际样本状态适度微调；

针对特殊类型样本，我司技术支持可提供专属优化建议。

五、结果计算：

1、按照样本蛋白浓度计算：

酶活定义：每毫克组织蛋白每分钟消耗 1 nmol 的 NADH 定义为一个酶活力单位。

FBA(nmol/min/mg prot)=[ΔA÷(ε×d)×V2×10^9]÷(V1×Cpr)÷T=214.4×ΔA÷Cpr

2、按照样本质量计算：

酶活定义：每克组织每分消耗 1 nmol 的 NADH 定义为一个酶活力单位。

FBA(nmol/min/g 鲜重)=[ΔA÷(ε×d)×V2×10^9]÷(W×V1÷V)÷T=214.4×ΔA÷W

ε---NADH 摩尔消光系数，6.22×10^3 L / mol /cm；　　d---比色皿光径，0.5cm；

V---加入提取液体积，1mL；　　V1---加入样本体积，0.02mL；

V2---反应体系总体积，0.2mL=2×10^{-4}L；　　T---反应时间，15 min；

W---样本质量，g

Cpr---样本蛋白质浓度，mg/mL；建议使用本公司的 BCA 蛋白含量检测试剂盒。

For research use only. Not for use in diagnostic or therapeutic procedures.
本产品仅供科研使用，不得用于临床诊断或治疗。