Fructose-1,6-bisphosphate aldolase Activity Assay Kit

果糖 1,6-二磷酸醛缩酶（FBA）试剂盒说明书

货号：G0822F | 方法：紫外分光法 | 规格：48 样

一、产品简介：

果糖 1, 6-二磷酸醛缩酶(EC 4.1.2.13, FBA)既存在于糖酵解/糖异生途径中又存在于磷酸戊糖循环途径中，为生物体物质合成代谢提供能量 ATP 和底物，因此果糖 1, 6-二磷酸醛缩酶对细胞生命活动起到至关重要的作用。

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	液体 60mL×1 瓶	4℃保存	
试剂一	粉剂 mg×4 支	-20℃保存	用前甩几下或离心使试剂落入底部，每支加 0.6mL 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。
试剂二	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 1.2mL 蒸馏水溶解备用,可-20℃分装冻存,尽量避免反复冻融。
试剂三	液体 30mL×1 瓶	4℃保存	
试剂四	粉剂 mg×1 瓶	4℃保存	用前甩几下或离心使试剂落入底部，再加 4.5mL 蒸馏水溶解备用。

三、所需的仪器和用品：

紫外分光光度计、1mL 石英比色皿（光径 1cm）、可调式移液器、天平、震荡仪、水浴锅、低温离心机、研钵。

四、果糖 1,6-二磷酸醛缩酶（FBA）活性测定：

建议正式实验前选取 2 个样本做预测定，了解本批样品情况，熟悉实验流程，避免实验样本和试剂浪费！

1、样本制备：

① 组织样本：

称 0.1g 组织样本，加入 1mL 提取液进行冰浴匀浆，于 4℃，12000rpm 离心 10min，取上清液测定。

【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

② 细菌/细胞样本：

先收集细菌或细胞到离心管内，离心后弃上清；取 500 万细菌或细胞加入 1mL 提取液；超声波破碎细菌或细胞（冰浴，功率 20%或 200W，超声 3s，间隔 10s，重复 30 次）；4℃ 约 12,000rpm 离心 10min，取上清作为待测样品。

【注】：若增加样本量，可按照细菌/细胞数量（10^4）：提取液（mL）为 500~1000：1 的比例进行提取。

2、上机检测：

① 紫外分光光度计预热 30min，调节波长至 340nm，设定温度 25℃。

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 所有试剂解冻至室温（25℃），或可放在25℃条件下水浴5-15min。

③ 试剂二和三和四可按照20:520:80比例配成混合液（一枪加620μL该混合液）（**该混合液用多少配多少，现配现用**）。

④ 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	80
试剂一	40
试剂二	20
试剂三	520
试剂四	80
轻轻混匀，室温（25℃）下于340nm处测定，1min时读取A1，5min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=249.2×ΔA÷Cpr

2、按照样本质量计算：

酶活定义：每克组织每分钟消耗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=249.2×ΔA÷W

3、按细胞数量计算：

酶活定义:每10^4个细胞每分钟消耗1 nmol的NADH定义为一个酶活力单位。

FBA(nmol/min/10^4 cell)=[ΔA÷(ε×d)×V2×10^9]÷(500×V1÷V)÷T=249.2×ΔA÷500

ε---NADH摩尔消光系数，6.22×10^3 L / mol /cm；　d---比色皿光径，1cm；
V---加入提取液体积，1mL；　V1---加入样本体积，0.08mL；
V2---反应体系总体积，620μL=6.2×10^{-4}L；　T---反应时间，5 min；
W---样本质量，g；　500---细胞数量，万；
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。