Fructokinase Assay Kit

果糖激酶（FK）试剂盒说明书

货号：G0871F | 方法：紫外分光法 | 规格：48 样

一、产品简介：

果糖激酶（FK，EC 2.7.1.4）能调节蔗糖与淀粉之间的相互转化，参与调控植物的代谢和生长发育。

果糖激酶（FK）磷酸化果糖生成 6-磷酸果糖，该产物进一步在复合酶的相继作用下，还原 NADP 生成 NADPH，通过检测 NADPH 在 340nm 处光吸收增加速率，得出果糖激酶的酶活性大小。

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	液体 40mL×1 瓶	4℃保存	
试剂二	粉剂 mg×1 支	-20℃保存	用前甩几下使试剂落入底部，再加 1.7mL 的蒸馏水溶解备用。
试剂三	液体μL×1 支	-20℃保存	用前甩几下使试剂落入底部，再加 1.7mL 的蒸馏水溶解备用。
试剂四	粉剂 mg×1 瓶	4℃保存	用前甩几下使试剂落入底部，再加 34mL 的试剂一溶解备用。
试剂五	粉剂 mg×1 支	4℃保存	用前甩几下使试剂落入底部，再加 1.7mL 的蒸馏水溶解备用。

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）、恒温水浴锅、台式离心机、水浴锅、可调式移液器、研钵、冰和蒸馏水。

四、果糖激酶(FK)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：

称取约 0.1g 组织，加入 1mL 提取液，进行冰浴匀浆。12000rpm，4℃离心 10min，取上清，置冰上待测。

【注】：若增加样本量，可以按照组织质量(g):提取液体积(mL)为 1:5~10 的比例提取。

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；冰浴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）；12000rpm，4℃离心 10min，取上清，置冰上待测。

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

③ 液体样本：直接检测。若浑浊，离心后取上清检测。

2、上机检测：

① 紫外分光光度计预热 30min 以上，调节波长至 340nm，蒸馏水调零。

② 所有试剂可放在 37℃水浴 5-15min。

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。

③ 试剂二和三和四可按照 30:30:580 比例配成混合液（一枪加 640μL 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	70
试剂二	30
试剂三	30
试剂四	580
混匀，37℃下孵育 5min	
试剂五	30
混匀，37℃下，立即于 340nm 处读取吸光值 A1，15min 后读取 A2，△A=A2-A1。	

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、按样本蛋白浓度计算：

单位定义：每毫克组织蛋白每分钟生成 1 nmol 的 NADPH 定义为一个酶活力单位。

果糖激酶(FK)(nmol/min/mg prot)=[ΔA÷(ε×d)×V2×10^9]÷(V1×Cpr)÷T=113.3×ΔA÷Cpr

2、按样本鲜重计算：

单位定义：每 g 组织每分钟生成 1 nmol 的 NADPH 定义为一个酶活力单位。

果糖激酶(FK)(nmol/min/g 鲜重)=[ΔA÷(ε×d)×V2×10^9]÷(W×V1÷V)÷T=113.3×ΔA÷W

3、按细菌或细胞密度计算：

单位定义：每 1 万个细菌或细胞每分钟生成 1 nmol 的 NADPH 定义为一个酶活力单位。

果糖激酶(FK)(nmol/min/10^4 cell)=[ΔA÷(ε×d)×V2×10^9]÷(500×V1÷V)÷T=0.227×ΔA

4、按液体体积计算：

单位定义：每毫升液体每分钟生成 1 nmol 的 NADPH 定义为一个酶活力单位。

果糖激酶(FK)(nmol/min/mL)=[ΔA÷(ε×d)×V2×10^9]÷V1÷T=113.3×ΔA

ε----NADPH 摩尔消光系数，6.22×10^3 L / mol /cm；　d----1mL 石英比色皿，1cm；

V----加入提取液体积，1 mL；　V1----加入样本体积，0.07mL；

V2----反应体系总体积，7.4×10^{-4} L；　T----反应时间，15min；

W----样本质量，g；　500---细菌或细胞总数，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。