Fructose-1,6-Diphosphate Content Assay Kit

1,6-二磷酸-果糖(FDP)含量试剂盒说明书

货号：G0877W | 方法：微板法 | 规格：96 样

一、产品简介：

1,6-二磷酸果糖 (FDP) 是糖酵解过程中的中间产物，具有调节糖代谢中某些酶活性的功能，为恢复、改善细胞代谢的分子水平药物，广泛应用于医药、保健、美容等行业。

本试剂盒提供一种简单，灵敏，快速的测定方法：1,6-二磷酸果糖 (FDP)在醛缩酶(ALD)和磷酸甘油醛异构酶(TIM)的作用下生成磷酸两分子二羟丙酮(DAP)，DAP 在 3-磷酸甘油脱氢酶 (GDH) 作用下能将 NADH 氧化，通过检测 NADH 在 340nm 处的下降量，进而计算得出 1,6-二磷酸果糖 (FDP)含量。

二、试剂盒组成和配制：

试剂名称	规格	保存要求	备注
提取液	液体 100mL×1 瓶	4℃保存	
试剂一	粉体 mg×4 支	-20℃保存	用前甩几下或离心使试剂落入底部，每支再加 0.3mL 蒸馏水溶解备用。用不完的液体试剂分装后-20℃保存，禁止反复冻融，一周内用完。
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 1.1mL 蒸馏水溶解备用。用不完的液体试剂分装后-20℃保存，禁止反复冻融。
试剂三	液体 15mL×1 瓶	4℃保存	
试剂四	液体μL×1 支	4℃保存	用前甩几下或离心使试剂落入底部，再加 1.1mL 蒸馏水溶解备用。用不完的液体试剂分装后-20℃保存，禁止反复冻融。
标准品	液体 mL×1 支	4℃保存	仅用来鉴定试剂盒中试剂是否正常（不参与结果计算）。 使用方法：该标准品（FDP）浓度为 10μmol/mL，用前再用蒸馏水稀释 10 倍成 1μmol/mL 备用；按照加样表中的测定管操作（样本更换成备用浓度的标准品）。

三、所需的仪器和用品：

酶标仪、96 孔板、台式离心机、可调式移液器、研钵、水浴锅、冰和蒸馏水。

四、1,6-二磷酸果糖 (FDP)含量测定：

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：

建议称取约 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：

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。

先收集细菌或细胞到离心管内，离心后弃上清；取约 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 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）：提取液（mL）为 500~1000：1 的比例进行提取。

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 酶标仪预热 30min 以上，调节波长至 340nm。

② 试剂解冻至室温（25℃），或可放在 25℃条件下水浴 5-15min。

③ 试剂一和二和三可按照 10:10:150 比例配成混合液（一枪加 170μL 该混合液）（**该混合液用多少配多少，现配现用**）。

④ 在 96 孔板中按照下表依次加入试剂：

试剂名称（μL）	测定管
样本	20
试剂一	10
试剂二	10
试剂三	150
轻轻混匀，室温（25℃）于 340nm 处测定，15min 后读取 A1。	
试剂四	10
轻轻混匀，室温（25℃）于 340nm 处测定，20min 后读取 A2(直到 2min 内 A2 值变化小于 0.02)。△A=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、按样本重量计算：

FDP 含量(mg/g 鲜重)=[(ΔA÷(ε×d)×V2×10^3×Mr]÷(W×V1÷V)×D ÷2=0.55×ΔA÷W×D

2、按细胞数量计算：

FDP 含量(μg/10^4 cell)=[(ΔA÷(ε×d)×V2×10^6×Mr]÷(500×V1÷V)÷2×D=1.1×ΔA×D

3、按照液体体积计算：

FDP 含量(mg/mL)=[(ΔA÷(ε×d)×V2×10^3×Mr]÷V1÷2×D=0.55×ΔA×D

ε---NADH 摩尔消光系数，6.22×10^3 L/mol/cm；

d---96 孔板光径，0.5cm；

V---加入提取液体积，1 mL；

V1---加入样本体积，0.02mL；

V2---反应总体积；0.2mL=2×10^{-4}L；

W---样本质量，g；

Mr---1,6-二磷酸果糖 (FDP)分子量；340.06；

500---细胞数量，万；

2---1 分子 FDP 生成 2 分子二羟丙酮。

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。