

果糖-1,6-二磷酸（FDP）含量检测试剂盒说明书

微量法

注意：本产品试剂有所变动，请注意并严格按照该说明书操作。

货号：BC2245

规格：100T/96S

产品组成：使用前请认真核对试剂体积与瓶内体积是否一致，有疑问请及时联系索莱宝工作人员。

试剂名称	规格	保存条件
提取液一	液体 110 mL×1 瓶	2-8℃保存
提取液二	液体 20 mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂一	液体 12 mL×1 瓶	-20℃保存
试剂二	粉剂×1 瓶	-20℃保存
试剂三	液体 14 μL×1 瓶	2-8℃保存
试剂四	液体 100 μL×1 瓶	2-8℃保存
试剂五	液体 20 μL×1 瓶	2-8℃保存
标准品	粉剂×1 支	2-8℃保存

溶液的配制：

- 1、试剂二：临用前加入 4mL 蒸馏水，充分溶解，用不完的试剂分装后-20℃保存 4 周，禁止反复冻融；
- 2、试剂三：液体置于试剂瓶内 EP 管中，使用前离心至底部。临用前加入 2.5mL 蒸馏水充分溶解，用不完的试剂分装后-20℃保存 4 周，禁止反复冻融；
- 3、试剂四：液体置于试剂瓶内 EP 管中，使用前离心至底部。临用前加入 2.5mL 蒸馏水充分溶解，用不完的试剂分装后-20℃保存 4 周，禁止反复冻融；
- 4、试剂五：临用前加入 0.62mL 蒸馏水，充分溶解后待用，用不完的试剂-20℃分装保存 4 周，避免反复冻融；
- 5、标准品：临用前加入 1176μL 蒸馏水充分溶解，配制成 50μmol/mL 果糖-1,6-二磷酸标准品，2-8℃保存 4 周。

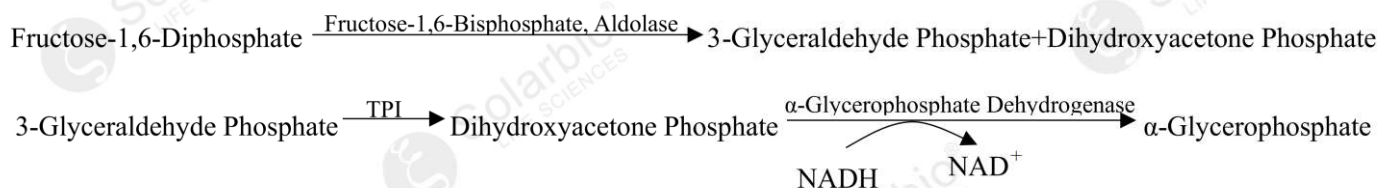
注：（1）溶液配制处的离心使用掌上离心机甩离即可；

（2）试剂三、试剂四、试剂五液体体积小，可能会由于液体贴壁导致无法再次吸取足够体积，不影响使用；直接加入蒸馏水溶解即可。

产品说明：

果糖 1,6-二磷酸（Fructose-1,6-Diphosphate, FDP）是糖酵解过程中的一种重要的中间产物，对多种酶具有调节作用，具有改善细胞能量代谢、增加能量利用、抗心律失常及抗组织过氧化等作用，广泛应用于临床医药。

醛缩酶催化果糖 1,6-二磷酸生成 3-磷酸甘油醛和磷酸二羟丙酮，在磷酸丙糖异构酶和 α-磷酸甘油脱氢酶作用下催化 NADH 和磷酸二羟丙酮生成 NAD⁺ 和 α-磷酸甘油，引起 340nm 处吸光度下降。通过测定 NADH 的变化，计算果糖 1,6-二磷酸的含量。





注意：实验之前建议选择 2-3 个预期差异大的样本做预实验。如果样本吸光值不在测量范围内建议稀释或者增加样本量进行检测。

需自备的仪器和用品：

紫外分光光度计/酶标仪、天平、低温台式离心机、水浴锅/恒温培养箱、微量石英比色皿/96孔UV板、可调式移液枪、研钵/匀浆器/细胞超声破碎仪、漩涡振荡仪、EP管、冰和蒸馏水。

操作步骤：

一、样本处理（可适当调整待测样本量，具体比例可以参考文献）

1. 组织：按照质量（g）：提取液一体积（mL）为1：5~10的比例（建议称取约0.1g，加入1mL提取液一）加入提取液一，冰浴匀浆后于4℃，12000g离心10min，取0.8mL上清液，再缓慢加入0.15mL提取液二，缓慢吹打混匀至无气泡产生，4℃ 12000g离心10min后取上清待测。
2. 细胞：按照细胞数量（10⁶个）：提取液一体积（mL）为5~10：1的比例（建议5×10⁶细胞加入0.5mL提取液一），冰浴超声破碎细胞（功率300w，超声3秒，间隔7秒，总时间3min）；于4℃，12000g离心10min，取0.4mL上清液，再缓慢加入0.075mL提取液二，缓慢吹打混匀至无气泡产生，4℃ 12000g离心10min后取上清待测。
3. 血清（浆）等液体：取0.5mL液体加入0.5mL提取液一，4℃ 12000g离心10min，取0.8mL上清液，再缓慢加入0.15mL提取液二，缓慢吹打混匀至无气泡产生，4℃ 12000g离心10min后，取上清待测。

注：提取液二需缓慢加入，加入后会产生大量气泡，建议使用2mL EP管进行操作。

二、测定步骤

- 1、分光光度计/酶标仪预热30min以上，调节波长至340nm，分光光度计蒸馏水调零。
- 2、根据样本量取部分试剂一37℃预热10min。
- 3、将50μmol/mL的果糖-1,6-二磷酸标准品用蒸馏水稀释为0.4、0.2、0.1、0.05、0.025、0μmol/mL的标准品备用。
- 4、标准品稀释表：

序号	稀释前浓度 (μmol/mL)	标准品体积 (μL)	蒸馏水体积 (μL)	稀释后浓度 μmol/mL)
1	50	16	984	0.8
2	0.8	400	400	0.4
3	0.4	400	400	0.2
4	0.2	400	400	0.1
5	0.1	400	400	0.05
6	0.05	400	400	0.025

备注：下述实验中每个标准管需50μL标准品（注意不要在此步骤直接检测标准品吸光度）。

5、样本测定：(在微量石英比色皿/96孔UV板中分别加入下列试剂)

试剂名称 (μL)	测定管	空白管	标准管
样本	50	-	-
蒸馏水	-	50	-
标准品	-	-	50
试剂一	85	85	85
试剂二	20	20	20
试剂三	20	20	20



本产品仅供科学研究使用。请勿用于临床、诊断、食品、化妆品检测等用途。

For research use only. Do not use for clinical, diagnostic, food, cosmetic testing and other purposes.

试剂四	20	20	20
试剂五	5	5	5

充分混匀后于340nm处测定10s时的吸光值A1，迅速置于37℃水浴10min，拿出迅速擦干测定10min10s时的吸光值A2，分别记为A1测定、A2测定、A1标准、A2标准、A1空白和A2空白。计算 ΔA 标准=(A1标准-A2标准)-(A1空白-A2空白)， ΔA 测定=(A1测定-A2测定)-(A1空白-A2空白)。(标准曲线和空白管只需测1-2次。)

注意：若样本量过多，可根据样本量按试剂一：试剂二：试剂三：试剂四：试剂五=85 μ L：20 μ L：20 μ L：20 μ L：5 μ L（共150 μ L，约1T）的比例混成工作液后使用，注意现配现用。

三、FDP 含量计算

1、标准曲线的绘制：

以各个标准品的浓度为 x 轴，其对应的 ΔA 标准为 y 轴，绘制标准曲线，得到标准方程 $y=kx+b$ ，将 ΔA 测定带入方程得到 x (μ mol/mL)。

2、FDP 含量的计算：

(1) 按蛋白浓度计算

$$\text{FDP 含量} (\mu\text{mol} / \text{mg prot}) = x \times V_{\text{样}} \div (C_{\text{pr}} \times V_{\text{样}}) = x \div C_{\text{pr}}$$

(2) 按样本质量计算

$$\text{FDP 含量} (\mu\text{mol} / \text{g 质量}) = x \times (V_{\text{上清}} + V_{\text{提取液二}}) \div (W \times V_{\text{上清}} + V_{\text{提取液一}}) = 1.1875x \div W \times F$$

(3) 按液体体积计算

$$\text{FDP 含量} (\mu\text{mol} / \text{mL}) = x \times (V_{\text{上清}} + V_{\text{提取液二}}) \div [V_{\text{液体}} \times V_{\text{上清}} \div (V_{\text{液体提取液一}} + V_{\text{液体}})] = 2.375x \times F$$

V 上清：提取时上清液体积，0.8mL；V 提取液二：提取液二的体积，0.15mL；V 提取液一：提取液一的体积，1mL；Cpr：样本蛋白浓度，mg/mL；W：样本质量，g；V 液体提取液一：液体样本提取液一的体积，0.5mL；V 液体：液体样本体积，0.5mL；F：稀释倍数。

(4) 按细胞数量计算

$$\text{FDP 含量} (\mu\text{mol} / 10^6 \text{ cell}) = x \times (V_{\text{上清}} + V_{\text{提取液二}}) \div (V_{\text{上清}} \div V_{\text{提取液一}} \times N) \times F = 0.594x \div N \times F$$

V 样：加入的样本体积，0.05mL；V 上清：提取时上清液体积，0.4mL；V 提取液二：提取液二的体积，0.075mL；V 提取液一：提取液一的体积，0.5mL；N：细胞数量，以百万计；F：稀释倍数。

注意事项：

- 1、提取液一中含有蛋白质沉淀剂，因此上清液不能用于蛋白浓度测定。如需测定蛋白浓度，需另取组织。
- 2、若 ΔA 测定值较高（96 孔 UV 板 ΔA 测定>0.3 或微量石英比色皿 ΔA 测定>0.5），建议将样本用蒸馏水稀释后再进行测定，若 ΔA 测定值过小可增大样本量或延长反应时间至 30min 或更长时间，注意同步修改计算公式。

实验实例：

- 1、取 0.121g 猕猴桃加入 1mL 提取液一进行冰浴匀浆，取 0.8mL 上清后缓慢加入 0.15mL 提取液二，离心后取上清液待用，按照测定步骤操作，用 96 孔 UV 板测得 ΔA 测定=(A1 测定-A2 测定)-(A1 空白-A2 空白)=(0.706-0.640)-(0.544-0.526)=0.048，带入标曲 $y=0.8171x-0.0074$ ， $R^2=0.9925$ ，计算 $x=0.068$ ，按样本质量计算 FDP 含量得：

$$\text{FDP 含量} (\mu\text{mol} / \text{g 质量}) = 1.1875x \div W \times F = 0.667 \mu\text{mol} / \text{g 质量}。$$





2、取 0.104g 大鼠心脏加入 1mL 提取液一进行冰浴匀浆，取 0.8mL 上清后缓慢加入 0.15mL 提取液二，离心后取上清液，按照测定步骤操作，用 96 孔 UV 板测得 ΔA 测定 = (A1 测定 - A2 测定) - (A1 空白 - A2 空白) = (0.711 - 0.666) - (0.544 - 0.526) = 0.027，带入标曲 $y = 1.5231x - 0.0275$ ， $R^2 = 0.9921$ ，计算 $x = 0.036$ ，按样本质量计算 FDP 含量得：

FDP 含量 ($\mu\text{mol/g}$ 质量) = $1.1875x \div W \times F = 0.411 \mu\text{mol/g}$ 质量

相关系列产品：

BC2270/BC2275 果糖-1,6-二磷酸醛缩酶 (FBA) 活性检测试剂盒

BC2250/BC2255 3-磷酸甘油酸激酶 (PGK) 活性检测试剂盒

