

(本试剂盒仅供体外研究使用，不用于临床诊断!)

产品货号：E-BC-F080

产品规格：96T(40 samples)

检测仪器：荧光酶标仪(激发波长 530 nm，发射波长 590 nm)

Elabscience[®]果糖荧光法测试盒

Fructose Fluorometric Assay Kit

使用前请仔细阅读说明书。如果有任何问题，请通过以下方式联系我们：

电话：400-999-2100

邮箱：biochemical@elabscience.cn

网址：www.elabscience.cn

具体保质期请见试剂盒外包装标签。请在保质期内使用试剂盒。

联系时请提供产品批号(见试剂盒标签)，以便我们更高效地为您服务。

用途

本试剂盒适用于检测血清（浆）、动植物组织样本的果糖含量。

检测原理

果糖（Fructose）是一种最常见的己酮糖，它作为单糖常以游离态大量的存在于水果和蜂蜜中。大量的流行病学资料和实验研究表明，果糖摄入过量可能是代谢性疾病发病率升高的重要因素。

果糖可在酶的作用下生成特定的产物，该产物与显色剂反应生成荧光物质(Ex/Em: 530 nm/590 nm)。

本试剂盒检测动植物组织样本时，需要测定蛋白浓度。动物组织推荐使用BCA法(货号:E-BC-K318-M);植物组织样本推荐使用考马斯亮蓝法(货号:E-BC-K168-M)。

提供试剂和物品

编号	名称	规格 (Size)(96 T)	保存方式 (Storage)
试剂一 (Reagent 1)	缓冲液 (Buffer Solution)	50 mL×1 瓶	-20°C 保存 6 个月
试剂二 (Reagent 2)	基质液 (Matrix Solution)	50 mL×1 瓶	-20°C 避光保存 6 个月
试剂三 (Reagent 3)	酶试剂 (Enzyme Reagent)	粉剂×8 支	-20°C 避光保存 6 个月
试剂四 (Reagent 4)	显色剂 (Chromogenic Agent)	粉剂×8 支	-20°C 避光保存 6 个月
试剂五 (Reagent 5)	底物 (Substrate)	粉剂×8 支	-20°C 避光保存 6 个月
试剂六 (Reagent 6)	加速剂 (Accelerant)	1 mL×1 瓶	-20°C 避光保存 6 个月
试剂七 (Reagent 7)	5 mmol/L 标准品溶液 (5 mmol/L Standard Solution)	1.6 mL×1 支	-20°C 保存 6 个月
	96 孔黑色酶标板		1 板
	96 孔覆膜		2 张
	样本位置标记表		1 张

说明：试剂严格按上表中的保存条件保存，不同试剂盒中的试剂不能混用。

对于体积较少的试剂，使用前请先离心，以免量取不到足够量的试剂。

所需自备物品

仪器：荧光酶标仪(激发波长：530 nm，发射波长：590 nm)、37℃恒温箱、涡旋混匀仪

试剂：生理盐水（0.9% NaCl）

试剂准备

① 检测前，试剂盒中的试剂平衡至室温。

② 试剂三工作液的配制：

取一支试剂三用1.125 mL试剂一溶解混匀，加入2 μL试剂六混匀，未使用的溶液2-8℃避光可保存一周。

③ 试剂四工作液的配制：

取一支试剂四用1.5 mL试剂二溶解混匀，未使用的溶液2-8℃避光可保存3天。

④ 试剂五工作液的配制：

取一支试剂五用1.5 mL试剂二溶解混匀，未使用的溶液2-8℃避光可保存3天。

⑤ 500 μmol/L标准品溶液的配制

按试剂七：双蒸水=1:9体积比配制，未使用的溶液2-8℃可保存一周。

⑥ 不同浓度标准品的稀释：

编号	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧
标准品浓度(μmol/L)	0	100	200	250	300	350	400	500
500 μmol/L 标准品溶液(μL)	0	40	80	100	120	140	160	200
双蒸水(μL)	200	160	120	100	80	60	40	0

样本准备

① 样本处理

组织样本：按照组织质量（g）与生理盐水（0.9% NaCl）体积（mL）=1: 9的比例进行匀浆，4℃，10000 ×g离心10 min，取上清置于冰上待测，留取部分上清用于蛋白浓度测定。

血清（浆）：直接检测。

② 样本的稀释

在正式检测前，需选择2-3个预期差异大的样本稀释成不同浓度进行预实验，根据预实验的结果，结合本试剂盒的线性范围：0.72-500 μmol/L，请参考下表稀释(仅供参考)：

样本	稀释倍数	样本	稀释倍数
10%西瓜果肉组织	40-90	10%芒果果肉组织	30-90
10%哈密瓜果肉组织	30-90	10%葡萄果肉组织	60-200
10%橘子果肉组织	20-80	10%凤梨果肉组织	15-40
10%小鼠肝组织	不稀释	人血清	不稀释
小鼠血清	不稀释	兔血清	不稀释

注：稀释液为生理盐水（0.9% NaCl）。

操作步骤

- ① 标准孔：取 20 μL 不同浓度的标准品溶液加入到相应的酶标孔中。
测定孔：取 20 μL 待测样本，加入到相应的酶标孔中。
对照孔：取 20 μL 待测样本，加入到相应的酶标孔中。
- ② 向步骤①中各孔加入 60 μL 试剂三工作液。
- ③ 振板 3 s, 37 $^{\circ}\text{C}$ 避光孵育 90 min。
- ④ 向步骤③中标准孔和测定孔加入 100 μL 试剂四工作液。
- ⑤ 向步骤③中对照孔加入 100 μL 试剂五工作液。
- ⑥ 振板 5 s, 37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 30 min, 使用荧光酶标仪于激发波长 530 nm, 发射波长 590 nm 处检测各孔荧光值。

操作表

	标准孔	测定孔	对照孔
不同浓度标准品溶液(μL)	20	--	--
待测样本(μL)	--	20	20
试剂三工作液(μL)	60	60	60
振板 3 s, 37 $^{\circ}\text{C}$ 避光孵育 90 min			
试剂四工作液(μL)	100	100	--
试剂五工作液(μL)	--	--	100
振板 5 s, 37 $^{\circ}\text{C}$ 避光孵育 30 min, 使用荧光酶标仪于激发波长 530 nm, 发射波长 590 nm 处检测各孔荧光值。			

本试剂盒检测动植物组织样本时，需要测定蛋白浓度。动物组织推荐使用 BCA 法(货号：E-BC-K318-M)；植物组织样本推荐使用考马斯亮蓝法(货号：E-BC-K168-M)。

结果计算

标准品拟合曲线: $y = ax + b$

组织样本中果糖含量计算公式:

$$\text{果糖含量} = \frac{\Delta F - b}{a} \div C_{pr} \div 1000 \times f$$

(mmol/gprot)

血清(浆)中果糖含量计算公式:

$$\text{果糖含量} = \frac{\Delta F - b}{a} \times f$$

($\mu\text{mol/L}$)

注解:

y: 标准品荧光值-空白荧光值(标准品浓度为 0 时的荧光值)

x: 标准品的浓度

a: 标曲的斜率

b: 标曲的截距

ΔF : 样本的绝对荧光值(测定孔荧光值-对照孔荧光值)

C_{pr} : 匀浆后样本蛋白浓度, gprot/L

1000: 单位换算系数, 1 mmol=1000 μmol

f: 样本加入检测体系前的稀释倍数

附录1 关键数据

1. 技术参数

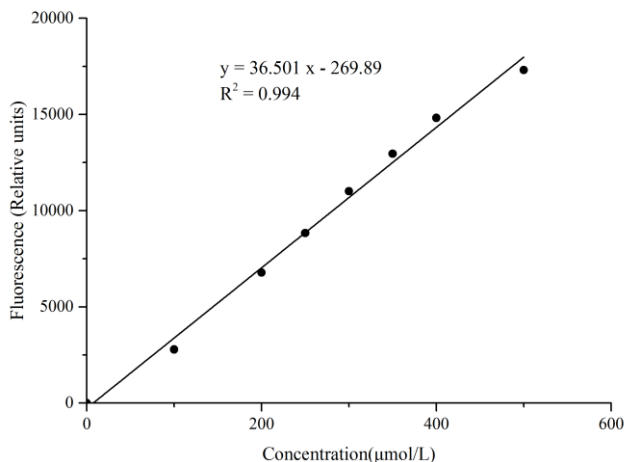
检测范围	0.72-500 $\mu\text{mol/L}$	批间差	3.2-7.3%
灵敏度	0.72 $\mu\text{mol/L}$	批内差	1.7-3.1%
加标回收率	97-111%		

2. 标准曲线(数据仅供参考)

① 不同浓度标准品加样量20 μL ，按照操作步骤进行实验，荧光值如下表所示：

标准品浓度 ($\mu\text{mol/L}$)	0	100	200	250	300	350	400	500
荧光值	490	3163	7128	8990	11105	13218	14882	17205
	497	3401	7417	9664	11908	13678	15740	18396
平均荧光值	493	3282	7273	9327	11506	13448	15311	17800
绝对荧光值	0	2789	6779	8834	11013	12955	14818	17307

② 绘制标曲(如下图):



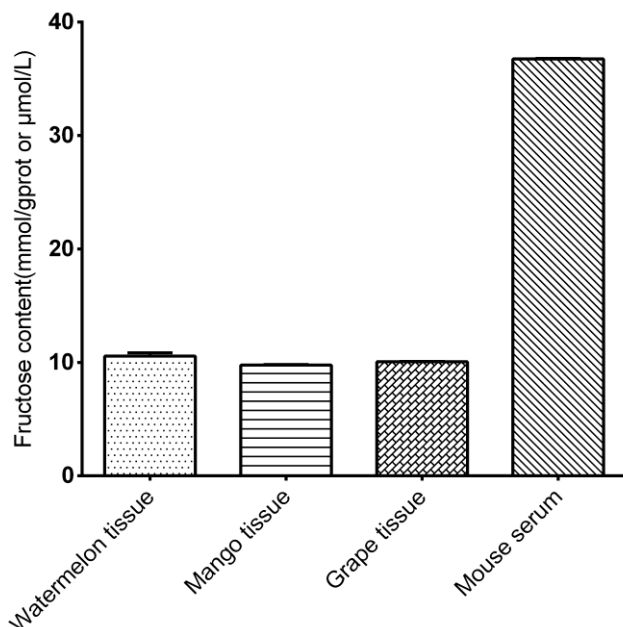
附录2 实例分析

例如检测芒果果肉组织(数据仅供参考):

取20 μL 的10%芒果果肉匀浆上清液(稀释30倍),按操作表操作,结果如下:标准曲线: $y = 36.501x - 269.89$,测定孔平均荧光值为17288,对照孔平均荧光值为686,10%芒果果肉组织匀浆的蛋白浓度为1.42 gprot/L,计算结果为:

$$\begin{aligned}\text{果糖含量}(\text{mmol/gprot}) &= (17288 - 686 + 269.89) \div 36.501 \div 1.42 \div 1000 \times 30 \\ &= 9.77 \text{ mmol/gprot}\end{aligned}$$

按说明书操作,测定西瓜果肉组织(10%组织匀浆蛋白浓度为1.97 gprot/L,稀释40倍,加样量20 μL)、芒果果肉组织(10%组织匀浆蛋白浓度为1.42 gprot/L,稀释30倍,加样量20 μL)、葡萄果肉组织(10%组织匀浆蛋白浓度为3.27 gprot/L,稀释60倍,加样量20 μL)、小鼠血清(加样量20 μL)的果糖含量(如下图):



声明

1. 试剂盒仅供研究使用，如将其用于临床诊断或任何其他用途，我公司将不对因此产生的问题负责，亦不承担任何法律责任。
2. 实验前请仔细阅读说明书并调整好仪器，严格按照说明书进行实验。
3. 实验中请穿着实验服并戴乳胶手套做好防护工作。
4. 试剂盒检测范围不等同于样本中待测物的浓度范围。如果样品中待测物浓度过高或过低，请对样本做适当的稀释或浓缩。
5. 若所检样本不在说明书所列样本类型之中，建议先做预实验验证其检测有效性。
6. 最终的实验结果与试剂的有效性、实验者的相关操作以及实验环境等因素密切相关。本公司只对试剂盒本身负责，不对因使用试剂盒所造成的样本消耗负责，使用前请充分考虑样本可能的使用量，预留充足的样本。

