

## 磷酸丙糖异构酶（TPI）检测试剂盒（UV板，微量法）

产品货号：BA1197

产品规格：100管/96样

### 产品简介：

植物叶绿体中磷酸丙糖异构酶是光合作用中参与calvin循环的重要酶。作用于磷酸甘油醛和磷酸二羟丙酮之间的转化，磷酸二羟丙酮能快速透过叶绿体的包膜进入细胞质，并在其中逐步转化为蔗糖。

磷酸丙糖异构酶将磷酸二羟丙酮转化为3-磷酸甘油醛，3-磷酸甘油醛与NAD在3-磷酸甘油醛脱氢酶的作用下生成3-磷酸甘油酸和NADH，340nm处的吸光度变化反映了磷酸丙糖异构酶的活性的高低。

**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。**

### 产品内容：

提取液一：液体100mL×1瓶，4℃保存。

提取液二：液体100mL×1瓶，4℃保存。

试剂一：液体12mL×1瓶，4℃保存。

试剂二：粉剂×1瓶，-20℃避光保存。临用前加2mL蒸馏水充分溶解；用不完的试剂分装后-20℃保存，禁止反复冻融。

试剂三：粉剂×1瓶，-20℃避光保存。临用前加2mL蒸馏水充分溶解；用不完的试剂分装后-20℃保存，禁止反复冻融。

试剂四：粉剂×1瓶，-20℃避光保存。临用前加2mL蒸馏水充分溶解；用不完的试剂分装后-20℃保存，禁止反复冻融。

### 需自备的仪器和用品：

天平、低温离心机、研钵、震荡仪、紫外分光光度计/酶标仪、微量石英比色皿/96孔板。

### 酶液提取：

1. 总TPI酶提取：建议称取约0.1g样本，加入1mL提取液一，冰浴匀浆后超声破碎（冰浴，200W，破碎3s，间歇7s，总时间1min），然后4℃，8000g离心10min，取上清测定。
2. 胞浆和叶绿体TPI酶的分离：按照植物组织质量（g）：提取液体积（mL）为1：5~10的比例（建议称取约0.1g样本，加入1mL提取液一），冰浴匀浆后于4℃，200g离心5min，弃沉淀，取上清在4℃，8000g离心10min，取上清用于测定胞浆TPI酶活性，取沉淀加1mL提取液二，震荡溶解后超声破碎（冰浴，200W，破碎3s，间歇7s，总时间1min），然后4℃，8000g离心10min，取上清测定叶绿体中TPI酶活性。

建议测定总TPI酶活性，按照步骤①提取粗酶液，若需要分别测定胞浆和叶绿体中的TPI，则按照步骤②提取粗酶液。

### 操作步骤：

1. 分光光度计/酶标仪预热30min，调节波长至340nm，蒸馏水调零。
2. 取微量石英比色皿/96孔板，依次加入120μL试剂一，20μL试剂二，20μL试剂三，20μL试剂四，20μL粗酶液，充分混匀，记录340nm处10s的吸光值A1和310s的吸光值A2， $\Delta A=A2-A1$ 。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q：807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com

### 计算公式:

#### a.用微量石英比色皿测定的计算公式如下

(1) 按照样本蛋白浓度计算

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

$$\text{TPI (nmol/min /mg prot)} = \Delta A \div (\epsilon \times d) \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \times \text{Cpr}) \div T = 321.54 \times \Delta A \div \text{Cpr}$$

(2) 按照样本质量计算

酶活单位定义: 每克组织每分钟生成1nmol的NADH定义为一个酶活力单位。

$$\text{TPI (nmol/min /g 鲜重)} = \Delta A \div (\epsilon \times d) \times V_{\text{反总}} \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 321.54 \times \Delta A \div W$$

V反总: 反应体系总体积, 0.2mL;  $\epsilon$ : NADH摩尔消光系数,  $6.22 \times 10^3 \text{ L / mol / cm}$ ; d: 比色皿光径, 1cm; V样: 加入样本体积, 0.02mL; V样总: 加入提取液体积, 1mL; T: 反应时间, 5min; Cpr: 样本蛋白质浓度, mg/mL; W: 样本质量, g。

#### b.用96孔板测定的计算公式如下

(1) 按照样本蛋白浓度计算

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

$$\text{TPI (nmol/min /mg prot)} = \Delta A \div (\epsilon \times d) \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \times \text{Cpr}) \div T = 643.08 \times \Delta A \div \text{Cpr}$$

(2) 按照样本质量计算

酶活单位定义: 每克组织每分钟生成1nmol的NADH定义为一个酶活力单位。

$$\text{TPI (nmol/min /g 鲜重)} = \Delta A \div (\epsilon \times d) \times V_{\text{反总}} \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 643.08 \times \Delta A \div W$$

V反总: 反应体系总体积, 0.2mL;  $\epsilon$ : NADH摩尔消光系数,  $6.22 \times 10^3 \text{ L / mol / cm}$ ; d: 比色皿光径, 0.5cm; V样: 加入样本体积, 0.02mL; V样总: 加入提取液体积, 1mL; T: 反应时间, 5min; Cpr: 样本蛋白质浓度, mg/mL; W: 样本质量, g



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址: 郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话: 400-611-0007 13671551480 13643719799

QQ: 807961520 731791866

邮箱: zzlybio@126.com