

# 植物叶绿体中磷酸丙糖异构酶 (TPI) 检测试剂盒

## (紫外分光光度法)

产品货号: BA1515

产品规格: 50管/48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50mL×1瓶,4℃保存。

提取液二:液体25mL×1瓶,4℃保存。

试剂一:液体30mL×1瓶,4℃保存。

试剂二:粉剂×1瓶,-20℃避光保存。临用前加5mL蒸馏水充分溶解。

试剂三:粉剂×1瓶,-20℃避光保存。临用前加5mL蒸馏水充分溶解。

试剂四:粉剂×1瓶,-20℃避光保存。临用前加5mL蒸馏水充分溶解。

### 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、1mL石英比色皿。

### 操作步骤:

#### 一、酶液提取

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,加入1mL提取液一)加入提取液一,冰浴匀浆后于4℃,1000g离心5min,取上清在4℃,4500g离心20min,去上清,取沉淀加0.5mL提取液二,置于震荡仪上震荡30s溶解,置冰上30min,重复操作一次(或者震荡溶解后超声,超声条件为功率200W,破碎3s,间歇7s,总时间1min),然后4℃,12000g离心10min,取上清待测。

#### 二、测定操作

1. 分光光度计预热30min,调节波长至340nm,蒸馏水调零。
2. 取1mL石英比色皿,依次加入600μL试剂一,100μL试剂二,100μL试剂三,100μL试剂四,100μL粗酶液,充分混匀,记录340nm处10s的吸光值A1和310s的吸光值A2,  $\Delta A = A2 - A1$ 。

#### 三、浓度计算:

(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。

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



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

(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。

$$\text{TPI (nmol/min/g)} = \Delta A \div (\epsilon \times d) \times V_{\text{反总}} \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 160.77 \times \Delta A \div W$$

V反总：反应体系总体积，1mL； $\epsilon$ ：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，0.1mL；V样总：加入提取液体积，0.5mL；T：反应时间，5 min；Cpr：样本蛋白质浓度，mg/mL；W：样本质量，g

**注意事项：**

配置好的试剂二、试剂三、试剂四3天内使用完。



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