

磷酸丙糖异构酶(TPI)试剂盒(可见显色法)（微板法）

产品货号：BA2705

产品规格：96样

产品简介：

磷酸丙糖异构酶(EC 5.3.1.1, TPI或TIM)是糖酵解的重要酶。使磷酸甘油醛和磷酸二羟丙酮之间互相转化，从而维持这两种磷酸酯的平衡。TPI可将糖酵解与戊糖磷酸途径和脂质代谢连接起来，且是一种几乎存在于所有生物中的稳定同型二聚体。

本试剂盒提供一种快速、简单且灵敏的检测方法，TP转化磷酸二羟丙酮转化为甘油醛3-磷酸，接着与酶混合物作用，同时与特异显色探针反应生成在450nm处有最大吸收峰的物质。通过检测450nm处光吸收增加量即可得到TPI酶活性大小。

产品内容：

试剂名称	规格	保存要求	备注
提取液	液体100mL×1瓶	2-8℃	
试剂一	液体μL×1支	-20℃	用前先离心或甩几下使试剂落入底部，再加1.1mL蒸馏水充分溶解。
试剂二	粉剂mg×1支	-20℃	用前先离心或甩几下使试剂落入底部，再加1.1mL蒸馏水充分溶解。
试剂三	液体1mL×1支	2-8℃	
试剂四	液体20mL×1瓶	2-8℃	
试剂五	粉剂mg×1支	-20℃	用前先离心或甩几下使试剂落入底部，再加1.1mL蒸馏水充分溶解。
标准品	粉剂mg×1支	-20℃	若重新做标曲，则用到该试剂。

所需的仪器和用品：

酶标仪、96孔板、可调式移液器、天平、低温离心机、研钵、震荡仪。

磷酸丙糖异构酶(TPI)活性测定：

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：

称0.1g组织样本，加入1mL提取液进行冰浴匀浆。于4℃，12000rpm离心10min，取上清液测定。

【注】：若增加样本量，可按照组织质量(g):提取液体积(mL)为1:5~10的比例进行提取。

② 细菌/细胞样本：

先收集细胞到离心管内，离心后弃上清；取约500万细菌或细胞加入1mL提取液；超声波破碎细菌和细胞(冰浴，功率200W，超声3s，间隔10s，重复30次)；12000rpm、4℃离心10min，取上清液，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：可直接测定，或者适当稀释后测定。若浑浊，离心后取上清检测。

2、上机检测：

① 酶标仪预热30min，调节波长至450nm，设置温度25℃。

② 所有试剂刚刚从冰箱里面拿出需先解冻至室温（25℃）。

③ 在96孔板中依次加入：

试剂名称（μL）	测定管
样本	10
试剂一	10



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

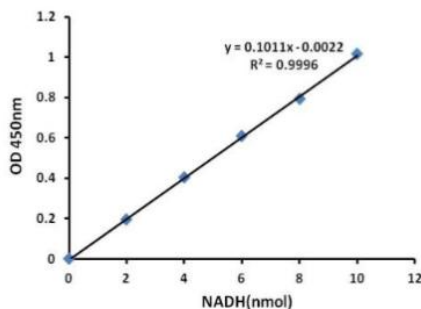
邮箱：zzlybio@126.com

试剂二	10
试剂三	10
试剂四	150
试剂五	10
轻轻混匀，于450nm处检测，20s读取A1，10min后读取A2， $\Delta A = A2 - A1$ 。	

【注】：1.若 ΔA 在零附近徘徊，可以延长反应时间(如30min)，或者加大样本量(如：20 μ L)，则试剂四相应减少。
2.若样本自身背景值较高，可设置一个自身对照(即试剂五用蒸馏水替代，其他不变)
 $\Delta A = \Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{对照}}$ 。

结果计算：

1. 标准曲线方程： $y = 0.1011x - 0.0022$ ，x是标准品摩尔质量(nmol)，y是 ΔA 。



2. 按照样本蛋白浓度计算：

酶活定义：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。

$$TPI(\text{nmol/min/mg prot}) = (\Delta A + 0.0022) \div 0.1011 \div (V1 \times Cpr) \div T = 98.9 \times (\Delta A + 0.0022) \div Cpr$$

3. 按照样本质量计算：

酶活定义：每克组织每分钟生成1nmol的NADH 定义为一个酶活力单位。

$$TPI(\text{nmol/min/g 鲜重}) = (\Delta A + 0.0022) \div 0.1011 \div (W \times V1 \div V) \div T = 98.9 \times (\Delta A + 0.0022) \div W$$

4. 按细菌/细胞数量计算：

酶活定义：每10⁴个细胞每分钟生成1nmol 的 NADH 定义为一个酶活力单位。

$$TPI(\text{nmol/min/10}^4\text{cell}) = (\Delta A + 0.0022) \div 0.1011 \div (500 \times V1 \div V) \div T = 98.9 \times (\Delta A + 0.0022) \div 500$$

V---加入提取液体积，1mL； T---反应时间，10min； V1---加入样本体积，0.01mL； w---样本质量，g；

500---细胞数量，万； Cpr---样本蛋白质浓度，mg/mL； 建议使用本公司的BCA蛋白含量检测试剂盒。

附：标准曲线制作过程：

1. 制备标准品母液(1nmol/ μ L)：向标准品EP管里面加入1.41ml蒸馏水(母液需在两天内用且-20℃保存)。
2. 把母液稀释成六个浓度梯度的标准品：0、0.2、0.4、0.6、0.8、1.0nmol/ μ L。也可根据实际样本来调整标准品浓度。
3. 依据加样表操作，根据结果即可制作标准曲线。



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