

## 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,TPI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

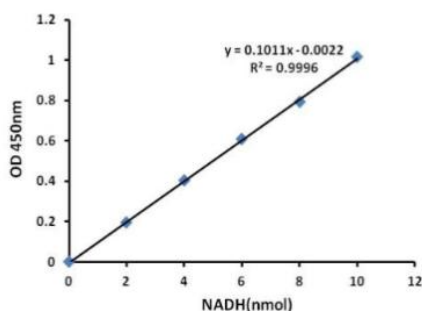
邮箱: zzlybio@126.com

|                                                           |     |
|-----------------------------------------------------------|-----|
| 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 $\Delta A$ 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 $\mu$ 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：

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



- 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。

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

- 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。

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

- 按细菌/细胞数量计算：

酶活定义：每 $10^4$ 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：

- 制备标准品母液(1nmol/ $\mu$ 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 $^{\circ}$ C保存)。
- 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/ $\mu$ L。也可根据实际样本来调整标准品浓度。
- 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