

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。

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



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司
Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话：400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱：saintbio@126.com

http://www.saint-bio.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； ϵ ：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

上海尚宝生物科技有限公司
Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话：400-611-0007 13671551480

Q Q：807961520

邮箱：saintbio@126.com

<http://www.saint-bio.com>