

磷酸丙糖异构酶(TPI)试剂盒(可见显色法) (可见分光光度法)

产品货号: BA2704

产品规格: 48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60mL×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40mL×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:

可见分光光度计、1mL玻璃比色皿(光径1cm)、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。

2、上机检测:

① 可见分光光度计预热30min,调节波长至450nm,设置温度25℃,蒸馏水调零。

② 所有试剂刚刚从冰箱里面拿出需先解冻至室温(25℃)。

③ 在1mL玻璃比色皿(光径1cm)中依次加入:

试剂名称(μL)	样本管
样本	40
试剂一	20



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

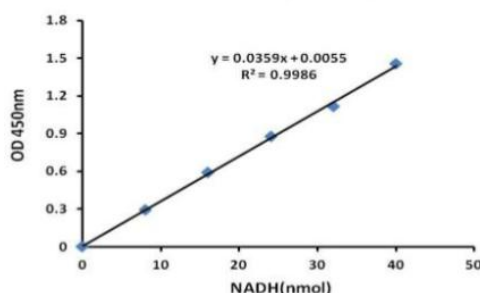
http://www.saint-bio.com

试剂二	20
试剂三	20
试剂四	680
试剂五	20
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：80 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：

- 标准曲线方程： $y = 0.0359x + 0.0055$ ，x是标准品摩尔质量(nmol)，y是 ΔA 。



- 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。

$$TPI(\text{nmol/min/mg prot}) = (\Delta A - 0.0055) \div 0.0359 \div (V1 \times Cpr) \div T = 69.6 \times (\Delta A - 0.0055) \div Cpr$$

- 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。

$$TPI(\text{nmol/min/g 鲜重}) = (\Delta A - 0.0055) \div 0.0359 \div (W \times V1 \div V) \div T = 69.6 \times (\Delta A - 0.0055) \div W$$

- 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。

$$TPI(\text{nmol/min/10}^4\text{cell}) = (\Delta A - 0.0055) \div 0.0359 \div (500 \times V1 \div V) \div T = 69.6 \times (\Delta A - 0.0055) \div 500$$

V---加入提取液体积，1mL；T---反应时间，10min；V1---加入样本体积，0.04mL；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/ 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)。
- 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。
- 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

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