

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°C	
试剂一	液体μL×1支	-20°C	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°C	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°C	
试剂四	液体20mL×1瓶	2-8°C	
试剂五	粉剂mg×1支	-20°C	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°C	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°C,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°C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°C。

② 所有试剂刚刚从冰箱里面拿出需先解冻至室温(25°C)。

③ 在96孔板中依次加入:

试剂名称(μL)	测定管
样本	10



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

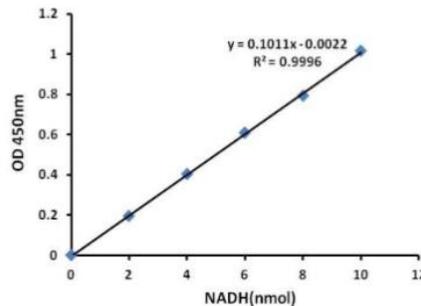
http://www.saint-bio.com

试剂一	10
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)
 $\Delta A = \Delta A_{测定} - \Delta A_{对照}$ 。

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。

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

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。

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

4. 按细菌/细胞数量计算：

酶活定义：每 10^4 个细胞每分钟生成1nmol 的 NADH 定义为一个酶活力单位。

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

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 $^{\circ}$ C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

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