

磷酸丙糖异构酶 (TPI) 活性检测试剂盒 (分光光度计法)
(本试剂盒仅供科研使用)

产品包装

产品编号	产品名称	产品规格
YFX0394	磷酸丙糖异构酶 (TPI) 活性检测试剂盒	50 管/48 样

产品内容

名称	规格	储存条件
提取液	液体 50mL ×1 瓶	4°C
试剂一	液体 30mL ×1 瓶	4°C, 避光
试剂二	粉剂×1 瓶: 临用前加 5mL 蒸馏水充分溶解。	-20°C
试剂三	粉剂×1 瓶: 临用前加 5mL 蒸馏水充分溶解。	-20°C
试剂四	粉剂×1 瓶: 临用前加 5mL 蒸馏水充分溶解。	-20°C

一、产品说明

磷酸丙糖异构酶是重要的糖酵解酶, 广泛存在于动植物及微生物体内, 在机体内参与葡萄糖代谢, 在糖酵解, 糖异生、脂肪酸生物合成及磷酸戊糖代谢中都发挥着重要作用。

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。

二、自备材料

天平、低温离心机、研钵、紫外分光光度计、1mL 石英比色皿。

三、样本准备:

- 1、组织: 按照质量 (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) 加入提取液, 冰浴匀浆后于 4°C, 10000g 离心 10min, 取上清置冰上待测。
- 2、细胞: 按照细胞数量 (10^4 个): 提取液体积 (mL) 为 500~1000: 1 的比例 (建议 500 万细胞加入 1mL 提取液), 冰浴超声波破碎细胞 (功率 300w, 超声 3 秒, 间隔 7 秒, 总时间 3min); 然后 4°C, 10000g 离心 10min, 取上清置冰上待测。
- 3、液体: 直接检测。

四、操作步骤

正式测定前, 必需取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定。

- 1、分光光度计或酶标仪预热 30min 以上, 调节波长至 340nm, 蒸馏水调零。
- 2、取 1mL 石英比色皿, 依次加入 600 μ L 试剂一, 100 μ L 试剂二, 100 μ L 试剂三, 100 μ L 试剂四, 100 μ L 粗酶液, 充分混匀, 记录 340nm 处 10s 的吸光值 A1 和 310s 的吸光值 A2, $\Delta A = A2 - A1$ 。

五、活性的计算

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 1 nmol 的 NADH 定义为一个酶活力单位。

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

2、按照样本质量计算:

酶活单位定义: 每克组织每分钟生成 1 nmol 的 NADH 定义为一个酶活力单位。

$$\text{TPI (nmol/min /g)} = \Delta A \div (\epsilon \times d) \times V_{\text{反总}} \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 321.54 \times \Delta A \div W$$

3、按照细胞数量计算:

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

$$\text{TPI (nmol/min /}10^4\text{cell)} = \Delta A \div (\epsilon \times d) \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \times \text{细胞数量} \div V_{\text{样总}}) \div T = 321.54 \times \Delta A \div \text{细胞数量}$$

4、按照液体体积计算:

酶活单位定义: 每毫升液体每分钟生成 1 nmol 的 NADH 定义为一个酶活力单位。

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

$V_{\text{反总}}$: 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; $V_{\text{样}}$: 加入样本体积, 0.1mL; $V_{\text{样总}}$: 加入提取液体积, 1mL; T : 反应时间, 5 min; Cpr : 样本蛋白质浓度, mg/mL; W : 样本质量, g。

六、注意事项

1、配制好的试剂二、试剂三、试剂四 3 天内使用完。