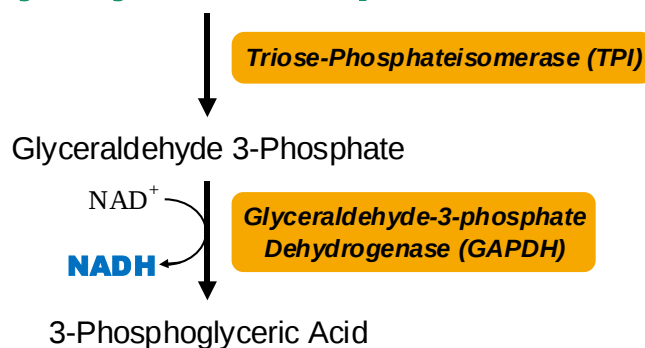




磷酸丙糖异构酶 (TPI) 活性检测试剂盒

Triose-Phosphateisomerase (TPI) Activity Assay Kit

Dihydroxyacetone Phosphate



北京盒子生工科技有限公司
Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.



磷酸丙糖异构酶（TPI）活性检测试剂盒

Triose-Phosphate isomerase (TPI) Activity Assay Kit

一、产品描述

磷酸丙糖异构酶广泛存在于哺乳动物、昆虫、真菌、植物和大多数细菌中，在糖酵解中具有重要作用，可催化 D 型甘油醛-3-磷酸和磷酸二羟丙酮之间的可逆转换，是植物光合作用中参与 Calvin 循环的关键酶，在机体能量代谢过程中具有重要意义。

磷酸丙糖异构酶能够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，NADH 在 340 nm 处具有特征吸收峰，通过吸光值变化即可表征磷酸丙糖异构酶的活性。

二、产品内容

名称	试剂规格	储存条件	使用说明及注意事项
提取液 A	液体 110 mL×1 瓶	4°C 保存	-
提取液 B	液体 110 mL×1 瓶	4°C 保存	-
试剂一	液体 13 mL×1 瓶	4°C 保存	-
试剂二	粉剂×2 支	-20°C 避光保存	使用前每支加入 1.1 mL 蒸馏水充分溶解（分装后-20°C 可保存 1 个月，避免反复冻融）
试剂三	粉剂×2 支	-20°C 避光保存	使用前每支加入 1.1 mL 蒸馏水充分溶解（分装后-20°C 可保存 1 个月，避免反复冻融）
试剂四	粉剂×2 支	-20°C 避光保存	使用前每支加入 2.5 mL 蒸馏水充分溶解（分装后-20°C 可保存 2 周，避免反复冻融）

三、产品使用说明

测定过程中所需要的仪器和试剂：紫外分光光度计/酶标仪、微量石英比色皿（光径 10 mm）/96 孔 UV 板、研钵/匀浆器、可调式移液器/多道移液器、台式离心机、恒温水浴/培养箱和蒸馏水。

1. 粗酶液的制备（可根据预实验结果适当调整样本量和比例）

(1) 总 TPI 的提取

按照组织质量 (g)：提取液 A 体积 (mL) 为 1: (5-10) 的比例（建议称取 0.1 g 组织，加入 1 mL 提取液 A）处理样品，冰浴超声破碎（功率 20% 或 200 W，超声 3 s，间歇 7 s，总时间 1 min），4°C 11000 g 离心 10 min，取上清即为粗酶液，用于测定总 TPI 的活性。

(2) 胞浆和叶绿体 TPI 的分离

- ①按照组织质量 (g): 提取液 A 体积 (mL) 为 1: (5-10) 的比例 (建议称取 0.1g 组织, 加入 1 mL 提取液 A) 处理样品, 冰浴匀浆, 4°C 300 g 离心 5 min, 弃沉淀, 留上清;
- ②将匀浆液离心上清液移至另一离心管中, 4°C 11000 g 离心 15 min;
- ③步骤②离心后上清液即胞浆提取物, 可用于测定胞浆 TPI 的活性。
- ④步骤②离心后沉淀中加入 1 mL 提取液 B, 充分振荡溶解, 冰浴超声破碎 (功率 20%或 200 W, 超声 3 s, 间歇 7 s, 总时间 1 min), 4°C 11000 g 离心 10 min, 取上清用于测定叶绿体中 TPI 的活性。

2.测定步骤

- ①紫外分光光度计或酶标仪预热 30 min 以上, 调节波长至 340 nm, 蒸馏水调零。
- ②在 96 孔 UV 板或微量石英比色皿中依次加入下列试剂:

试剂	测定组 (μL)
试剂一	120
试剂二	20
试剂三	20
试剂四	20
粗酶液	20

- 吸光值测定: ①充分混匀并立即开始计时, 测定 20 s (总时间) 时 340 nm 处吸光值, 记为 A1;
- ②37°C准确反应 300 s, 测定 320 s (总时间) 时 340 nm 处吸光值, 记为 A2; ③计算 $\Delta A = A_2 - A_1$ 。

3.磷酸丙糖异构酶 (TPI) 活性计算

3.1 使用 96 孔 UV 板测定的计算公式

- ①按组织蛋白浓度计算

单位定义: 每 mg 组织蛋白每分钟生成 1 nmol NADH 定义为一个酶活力单位。

$$\text{TPI (U/mg prot)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times 10^6}{\epsilon \times d_1 \times \text{Cpr} \times V_{\text{样}} \times T} = \frac{643.09 \times \Delta A}{\text{Cpr}}$$

- ②按组织样本质量计算

单位定义: 每 g 组织每分钟生成 1 nmol NADH 定义为一个酶活力单位。

$$\text{TPI (U/g)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{样总}} \times 10^6}{\epsilon \times d_1 \times W \times V_{\text{样}} \times T} = \frac{643.09 \times \Delta A}{W}$$

3.2 使用微量石英比色皿测定的计算公式

①按组织蛋白浓度计算

单位定义：每 mg 组织蛋白每分钟生成 1 nmol NADH 定义为一个酶活力单位。

$$\text{TPI (U/mg prot)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times 10^6}{\epsilon \times d_2 \times \text{Cpr} \times V_{\text{样}} \times T} = \frac{321.54 \times \Delta A}{\text{Cpr}}$$

②按组织样本质量计算

单位定义：每 g 组织每分钟生成 1 nmol NADH 定义为一个酶活力单位。

$$\text{TPI (U/g)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{样总}} \times 10^6}{\epsilon \times d_2 \times W \times V_{\text{样}} \times T} = \frac{321.54 \times \Delta A}{W}$$

注释： V 样：反应体系中加入粗酶液的体积，0.02 mL；V 样总：粗酶液总体积，1 mL；V 反总：反应体系总体积，0.2 mL； ϵ ：NADH 摩尔消光系数， 6.22×10^3 L/mol/cm； d_1 ：96 孔 UV 板光径，0.5 cm； d_2 ：微量石英比色皿光径，1 cm；Cpr：样本蛋白浓度，mg/mL；W：样本质量，g；T：反应时间，5 min。

四、注意事项

为保证结果准确且避免试剂损失，测定前请仔细阅读说明书（以实际收到说明书内容为准），确认试剂储存和准备是否充分，操作步骤是否清楚，且务必取 2-3 个预期差异较大的样本进行预测定，过程中问题请您及时与工作人员联系。

For Research Use Only. Not for Use in Diagnostic Procedures.

boxbio

Manufactured and Distributed by

Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.

Liandong U Valley, Tongzhou District, Beijing, China

TEL: 400-805-8228

E-MAIL: techsupport@boxbio.cn

Copyright © 2020 Boxbio, All Rights Reserved.

