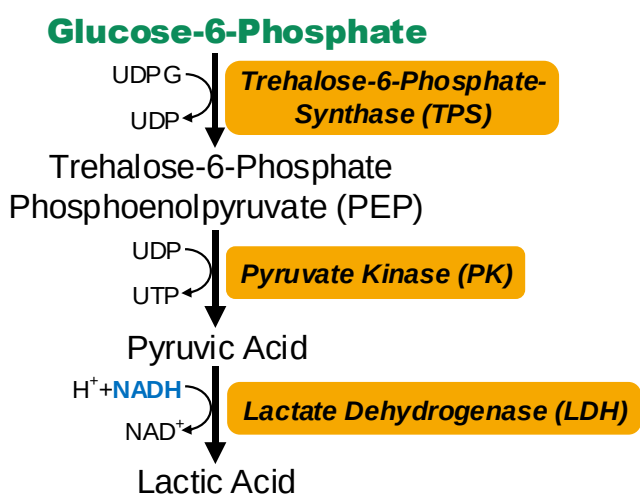




海藻糖-6-磷酸合成酶 (TPS) 活性检测试剂盒

Trehalose-6-Phosphate Synthase (TPS) Activity Assay Kit



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



海藻糖-6-磷酸合成酶（TPS）活性检测试剂盒

Trehalose-6-Phosphate Synthase (TPS) Activity Assay Kit

一、产品描述

海藻糖-6-磷酸合成酶是海藻糖合成途径中的关键酶，可催化尿苷二磷酸葡萄糖（UDPG）和 6-磷酸葡萄糖反应生成中间产物 6-磷酸海藻糖，进一步在海藻糖-6-磷酸磷酸酶（TPP）的催化作用下去磷酸化生成海藻糖，其活性分析对植物能量平衡调节和逆境响应机制等研究具有重要意义。

海藻糖-6-磷酸合成酶可催化 UDPG 与葡萄糖-6-磷酸生成海藻糖-6-磷酸，同时产生 UDP；UDP 在丙酮酸激酶与乳酸脱氢酶作用下，氧化 NADH 为 NAD^+ ，NADH 的下降速率与 UDP 含量成正比，NADH 在 340 nm 处具有特征吸收峰，通过吸光值反应速率即可表征海藻糖-6-磷酸合成酶的活性。

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	液体 100 mL×1 瓶	4°C 保存	-
试剂一	粉剂×1 瓶	-20°C 保存	使用前加入 12 mL 试剂五充分溶解 (分装后-20°C可保存一个月，避免反复冻融)
试剂二	粉剂×2 瓶	-20°C 保存	使用前每瓶加入 10 mL 试剂五充分溶解 (分装后-20°C可保存一个月，避免反复冻融)
试剂三	粉剂×1 瓶	-20°C 保存	使用前加入 100 μL 试剂五充分溶解 (分装后-20°C可保存一个月，避免反复冻融)
试剂四	液体 100 μL ×1 支	4°C 保存	-
试剂五	液体 50 mL×1 瓶	4°C 保存	-

三、产品使用说明

测定过程中所需要的仪器和试剂：酶标仪、96 孔 UV 板、研钵/匀浆器、可调式移液器、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及比例）

①组织：按照组织质量（g）：提取液体积（mL）为 1:（5-10）的比例（建议称取 0.1 g 组织，加入 1 mL 提取液）处理样品，冰浴匀浆，4°C 8000 g 离心 10 min，取上清置于冰上待测。

②细菌或细胞：离心收集细菌或细胞至离心管内，按照细菌或细胞数量(10^4 个)：提取液体积(mL)为(500-1000)：1的比例（建议500万个细菌或细胞加入1 mL提取液）处理样品，冰浴超声破碎（功率20%或200 W，超声3 s，间隔10 s，重复30次），4℃ 8000 g离心10 min，取上清置于冰上待测。

③培养液等液体样本：直接检测或适当稀释后再进行检测。

2.测定步骤

①酶标仪预热30 min以上，调节波长至340 nm。

②检测工作液的制备（现用现配）：根据使用量按试剂二：试剂三：试剂四=1000:1:1的体积比配制，充分混匀即为检测工作液。

③在离心管中依次加入下列试剂：

试剂	测定组 (μL)
粗酶液	100
试剂一	100
①充分混匀，30℃准确反应20 min	
②立即95℃处理5 min，冷却至室温	
③4℃ 10000 g离心5 min，取上清液	
在96孔UV板中依次加入下列试剂：	
上清液	20
检测工作液	180

吸光值测定：①充分混匀并立即开始计时，测定5 min（总时间）时340 nm处吸光值，记为A1；

②准确反应5 min，测定10 min（总时间）时340 nm处吸光值，记为A2；③计算 $\Delta A = A1 - A2$ 。

3.海藻糖-6-磷酸合成酶（TPS）活性计算

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。

$$\text{TPS (U/mg prot)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{酶促}} \times 10^9}{\epsilon \times d \times V_{\text{样}} \times V_{\text{上清}} \times \text{Cpr} \times T} = \frac{1286.17 \times \Delta A}{\text{Cpr}}$$

②按组织样本质量计算

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

$$\text{TPS (U/g)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{样总}} \times V_{\text{酶促}} \times 10^9}{\epsilon \times d \times V_{\text{样}} \times V_{\text{上清}} \times W \times T} = \frac{1286.17 \times \Delta A}{W}$$

③按细菌或细胞数量计算

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

$$\text{TPS (U/10}^4 \text{ cell)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{样总}} \times V_{\text{酶促}} \times 10^9}{\epsilon \times d \times V_{\text{样}} \times V_{\text{上清}} \times \text{细菌或细胞数量} \times T} = \frac{1286.17 \times \Delta A}{\text{细菌或细胞数量}}$$

④按液体样本体积计算

单位定义：每 mL 液体样本每分钟生成 1 nmol NADH 定义为一个酶活力单位。

$$\text{TPS (U/mL)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{酶促}} \times 10^9}{\epsilon \times d \times V_{\text{样}} \times V_{\text{上清}} \times T} = 1286.17 \times \Delta A$$

注释： V 反总：反应体系总体积， 2×10^{-4} L；V 酶促：酶促体系总体积，0.2 mL；V 样：反应体系中加入粗酶液的体积，0.1 mL；V 上清：反应体系中加入上清液的体积，0.02 mL；V 样总：粗酶液总体积，1 mL； ϵ ：NADH 摩尔消光系数， 6.22×10^3 L/mol/cm；d：96 孔 UV 板光径，0.5 cm；Cpr：样本蛋白浓度，mg/mL；W：样本质量，g；细菌或细胞数量：以万计；T：反应时间，5 min； 10^9 ：单位换算系数，1 mol/L = 10^9 nmol/L。

四、注意事项

①准确在相应时间点完成吸光值测定，以确保实验结果的准确性和重复性；若使用酶标仪需使用多道移液器且分批进行检测，以确保组间反应时间一致；

②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.

