

## 磷酸丙糖异构酶 (Triose-phosphate isomerase, TPI)

### 试剂盒说明书

分光光度法 50 管/48 样

正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定

#### 测定意义：

植物叶绿体中磷酸丙糖异构酶是光合作用中参与 calvin 循环的重要酶。作用于磷酸甘油醛和磷酸二羟丙酮之间的转化，磷酸二羟丙酮能快速透过叶绿体的包膜进入细胞质，并在其中逐步转化为蔗糖。

#### 测定原理：

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。

#### 组成：

产品名称	PSS010-50T/48S	Storage
提取液一：液体	50ml	4°C
提取液二：液体	50ml	4°C
试剂一：液体	30ml	4°C避光
试剂二：粉剂	1 瓶	-20°C避光
试剂三：粉剂	1 瓶	-20°C避光
试剂四：粉剂	1 瓶	-20°C避光
说明书	一份	

试剂二：粉剂×1 瓶，-20°C避光保存。临用前加 5ml 蒸馏水充分溶解；用不完的试剂分装后-20°C保存，禁止反复冻融。

试剂三：粉剂×1 瓶，-20°C避光保存。临用前加 5 ml 蒸馏水充分溶解；用不完的试剂分装后-20°C保存，禁止反复冻融。

试剂四：粉剂×1 瓶，-20°C避光保存。临用前加 5 ml 蒸馏水充分溶解；用不完的试剂分装后-20°C保存，禁止反复冻融。

#### 自备仪器和用品：

天平、低温离心机、研钵、震荡仪、紫外分光光度计、1 ml 石英比色皿。

最终解释权所有 © 伊势久（江苏连云港）生物科技有限责任公司，保留一切权利



伊势久(江苏连云港)生物科技有限责任公司

江苏省连云港市海州区花果山大道 17 号



服务热线：0518-81263339

官网：<http://www.bio149.com>

## 酶液提取

①**总 TPI 酶提取**：建议称取约 0.1g 样本，加入 1ml 提取液一，冰浴匀浆后超声破碎（冰浴，200W，破碎 3s，间歇 7s，总时间 1min），然后 4°C，8000g 离心 10min，取上清测定。

②**胞浆和叶绿体 TPI 酶的分离**：按照植物组织质量（g）：提取液体积(ml)为 1：5~10 的比例（建议称取约 0.1g 样本，加入 1ml 提取液一），冰浴匀浆后于 4°C，200g 离心 5min，弃沉淀，取上清在 4°C，8000g 离心 10min，取上清用于测定胞浆 TPI 酶活性，取沉淀加 1ml 提取液二，震荡溶解后超声破碎（冰浴，200W，破碎 3s，间歇 7s，总时间 1min），然后 4°C，8000g 离心 10min，取上清测定叶绿体中 TPI 酶活性。

建议测定总 TPI 酶活性，按照步骤①提取粗酶液，若需要分别测定胞浆和叶绿体中的 TPI，则按照步骤②提取粗酶液。

## 测定操作：

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

## 计算公式：

(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。

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

V<sub>反总</sub>：反应体系总体积，1ml； $\epsilon$ ：NADH 摩尔消光系数， $6.22 \times 10^3 \text{ L / mol / cm}$ ；d：比色皿光径，1cm；

V<sub>样</sub>：加入样本体积，0.1ml；V<sub>样总</sub>：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

