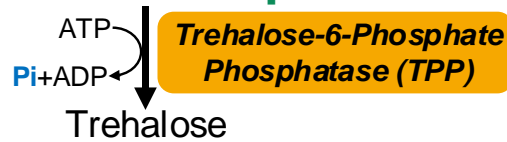




海藻糖-6-磷酸酯酶 (TPP) 活性检测试剂盒

Trehalose-6-Phosphate Phosphatase (TPP) Activity Assay Kit

Trehalose-6-Phosphate



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



海藻糖-6-磷酸酯酶 (TPP) 活性检测试剂盒

Trehalose-6-Phosphate Phosphatase (TPP) Activity Assay Kit

一、产品描述

海藻糖-6-磷酸酯酶是海藻糖合成途径中的关键酶，海藻糖-6-磷酸合成酶可催化尿苷二磷酸葡萄糖和 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-磷酸酯酶 (TPP) 的催化作用下磷酸化生成海藻糖，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-磷酸酯酶可催化海藻糖-6-磷酸生成海藻糖，同时释放出磷酸根，进一步采用钼锑抗比色法测定磷酸根的生成量，通过吸光值变化即可表征海藻糖-6-磷酸酯酶的活性。

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	液体 12 mL×1 瓶	4°C 保存	-
试剂二	液体 6 mL×1 瓶	4°C 保存	-
试剂三	粉剂×1 支	4°C 保存	使用前加入 2 mL 蒸馏水充分溶解 (配制后 4°C 可保存一个月)
试剂四	粉剂×3 支	4°C 保存	使用前每支加入 1 mL 蒸馏水充分溶解 (根据使用量现用现配)

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°C 8000 g 离心 10 min，取上清置于冰上待测。

③培养液等液体样本：直接测定或适当稀释后再进行测定，若样本浑浊需离心后取上清测定。

2.测定步骤

①酶标仪预热 30 min 以上，调节波长至 660 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=33:5:12 的体积比配制，充分混匀即为检测工作液，配制后应为浅黄色，若无色则表明试剂失效，若蓝色则为磷污染。

③**灭活酶液的制备**：吸取 200 μL 粗酶液，95°C处理 10 min（密封以防止水分散失），冷却至室温即为灭活酶液。

④在离心管中依次加入下列试剂：

试剂	测定组 (μL)	对照组 (μL)
粗酶液	100	-
灭活酶液	-	100
试剂一	100	100
①充分混匀，37°C准确反应 30 min		
②立即 95°C处理 5 min，冷却至室温		
③4°C 10000 g 离心 5 min，取上清液		
在 96 孔板中依次加入下列试剂：		
上清液	40	40
检测工作液	20	20
蒸馏水	140	140

注：95°C处理过程中注意密封以防止水分散失。

吸光值测定：测定 660 nm 处吸光值，记为 A 测定和 A 对照； $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ 。

3.海藻糖-6-磷酸酯酶（TPP）活性计算（ $y=0.0019x-0.0078$ ， $R^2=0.999$ ）

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 无机磷定义为一个酶活力单位。

$$\text{TPP (U/mg prot)} = \frac{(\Delta A + 0.0078) \times V_{\text{反总}}}{0.0019 \times V_{\text{样}} \times C_{\text{pr}} \times T} = \frac{35.09 \times (\Delta A + 0.0078)}{C_{\text{pr}}}$$

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 无机磷定义为一个酶活力单位。

$$\text{TPP (U/g)} = \frac{(\Delta A + 0.0078) \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{样总}}}{0.0019 \times V_{\text{样}} \times W \times T} = \frac{35.09 \times (\Delta A + 0.0078)}{W}$$

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 无机磷定义为一个酶活力单位。

$$\text{TPP (U/10}^4 \text{ cell)} = \frac{(\Delta A + 0.0078) \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{样总}}}{0.0019 \times V_{\text{样}} \times \text{细菌或细胞数量} \times T} = \frac{35.09 \times (\Delta A + 0.0078)}{\text{细菌或细胞数量}}$$

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 无机磷定义为一个酶活力单位。

$$\text{TPP (U/mL)} = \frac{(\Delta A + 0.0078) \times V_{\text{反总}}}{0.0019 \times V_{\text{样}} \times T} = 35.09 \times (\Delta A + 0.0078) \times \Delta A$$

注释： V 反总：反应体系总体积，0.2 mL；V 样：反应体系中加入粗酶液的体积，0.1 mL；V 样总：粗酶液总体积，1 mL；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，30 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.

