

## 海藻糖-6-磷酸合成酶 (Trehalose-6-phosphate- Synthase) 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:

派囊糖味甫丞两葛恭糖刀孀仔ΦコΦ-1-1 糖英敏还旋耆戊百 执能远厚暖糖コ幹法子  
 打子紺菽一脂穀菽一霏菽一靛產菽一佈箇根物一响麟一旗族栲功物响麟箇根物箇夔秋會朴位  
 喪一派囊糖百能远庫怡冬圭龜孽寶醜一礮一麟渣箇百稽圭怡一叠叠コ孽膝躡共會徂彈百响氮  
 怡コ俺孽打貳物位藝共會抑脫氮必產コ打退壞朽仰丁即途迂决別叠貳刺瀝一亡貳响會迨俛叱一  
 填囚衝迈响全謎排芋末俗扱根物兕发万麟玩壞百伞窘一  
 根物位藝半榨仔葛恭糖臨序物百戊派囊糖コ詬礎庖饑先打派囊糖-6-磷酸官戊酰  
 クtrehalose-6-phosphate synthaseコTPSグ百必産丁コ偁匍尹英了磷酸葛恭糖クUDPGグ响 6-  
 磷酸葛恭糖礎庖貳戊喪問亡物6-磷酸派囊糖コ右打派囊糖-6-磷酸磷酸酰 クtrehalose  
 6-phosphate phosphataseコTPPグ百必産丁礮磷酸匍コ貳戊派囊糖一囚歎コ浅圭TPS洵怡寶予  
 价穰根物退壞共會采榨愉乃一

### 海藻糖-6-磷酸合成酶 (Trehalose-6-phosphate- Synthase) 试剂盒 测定原理:

TPS 偁匍 UDPG 丈 G6P 貳戊派囊糖-6-磷酸コ眩肝亡貳 UDPヲUDP 打专敲醒瀝酰丈互  
 醒脫甯酰必産丁コ匍匍 NADH 臨 NAD+コNADH 百丁隴這攸丈 UDP 吓釉戊歎每コ途迂 340nm  
 响元庠丁隴這攸酰 TPS 洵怡一

需自备的仪器和用品:

刀元元庠議一氮浮鏗一叩排非稈滓噢一1mL 短苦每艘輝一价钷一暮响蒲餽氮一

试剂的组成和配制:

搯发滓滓位 100mL×1 脛コ4°C俗子ヲ

詔劫 子靴劫×1 脛コ-20°C俗子ヲ乳産則劇酰 10mL 詔劫于澹氦コ産万穹百詔劫刀桂合-20°C  
 俗子コ襖歎礎备况蜈ヲ

詔劫了子靴劫×2 脛コ-20°C俗子ヲ乳産則劇酰 25mL 詔劫于澹氦 ヲ玲鄭玲産ヲ

詔劫七子靴劫×1 脛コ-20°C透元俗子ヲ乳産則劇酰 0.1mL 詔劫于澹氦コ産万穹百詔劫刀桂合  
 -20°C俗子コ襖歎礎备况蜈ヲ

詔劫噉ヲ100μL×1 脛コ4°C透元俗子ヲ乳産則佈這襖微コ仟阮歎詔劫沸打筑墙ヲ

詔劫于子滓位 100mL×1 脛コ4 “俗子ヲ

### 海藻糖-6-磷酸合成酶 (Trehalose-6-phosphate- Synthase) 试剂盒 亮必滓百鄭到子乳産則コ先鄭罨奸

1 脛詔劫了响詔劫七コ焰合打詔劫了脛喪劇酰 25μL 詔劫

七响 25μL 詔劫噉コ儿刀深勺コ玲鄭玲産一

样品测定的准备:

1一紺菽成紺脛百詭玲子边雀紺菽成紺脛刪襖微毓藝コ襖微合廻上滓ヲ控健紺菽成紺脛激袖  
 ク10+ 兩ヲチ搯发滓位秩クmLグ臨 500~1000ヲ1 百每该ク及讨 500 丁紺菽成紺脛劇酰 1mL  
 搯发滓グコ越嚙沘碧礮紺菽成紺脛ク幕浮コ劔灑 20ガ成 200Wコ越嚙 3Sコ问階 10Sコ采备  
 30 櫛グヲ8000gコ4°C襖微 10minコ反上滓コ罨幕上佛浅一

2一纾继百詭玲子控健纾继财釉ク

gヲ搯发滓位秩(mL)臨 1ヲ5~10 百每该ク及讨祇发糾 0.1g

纾继コ劇酰 1mL 搯发滓グコ幕浮喪勺油一8000g コ4°C襖微 10minコ反上滓コ罨幕上佛浅一

测定步骤

1一打 EP 毓喪劇酰妊丁詔劫

詔劫呼祇 (μLグ)	浅宝毓
拱膝	150
詔劫	150

深勺コ 30 “礎庖 20min コ95 “氮浮 2min 灑洵コ 互后臭实渣一10000g 4 “襖微 5minコ反上尼 礎庖滓佛浅一

2一亮必滓鄭到子 途靛詔劫百纾戊响鄭到喪亮必滓百鄭到一

3一打 1mL 玊玊每艘輝喪劇酰妊丁詔劫

健疥滓	100
亢泌滓	900

深勺コ浅室 340nm 丁 5min 合咧元俱 A1 丈 10min 合咧元俱 A2 コ  $\Delta A = A1 - A2$  丁

TPS 活力计算:

1 丁控健帖卒浚庠讐筭

协佇百室乃チ暨 mg 纒继帖卒暨刀钙骨匍 1nmol NADH 室乃临 两酰洵剿协佇 丁

TPS 洵剿(nmol/min/mg prot) =  $\Delta A \times V \text{ 健怵} \div (\epsilon \times d \times 10^9 \div \text{ク} V \text{ 棋} \times \text{Cpr} \text{グ} \div T \times 3 = 643 \times \Delta A \div \text{Cpr}$

2 丁控棋膝鲷采讐筭

协佇百室乃チ暨 g 纒继暨刀钙骨匍 1nmol NADH 室乃临 两酰洵剿协佇 丁

TPS 洵剿(nmol/min/g 鲷采) =  $\Delta A \times V \text{ 健怵} \div (\epsilon \times d \times 10^9 \div \text{ク} W \times V \text{ 棋} \div V \text{ 棋怵} \text{グ} \div T \times 3 = 643 \times \Delta A \div W$

3 丁控绀菟成绀脘采庠讐筭协佇百室乃チ暨 1 丁两绀菟成绀脘暨刀钙骨匍 1nmol NADH 室乃临 两酰洵剿协佇 丁 TPS 洵剿(nmol/min/10<sup>4</sup> cell) =  $\Delta A \times V \text{ 健怵} \div (\epsilon \times d \times 10^9 \div \text{ク} V \text{ 棋} \times \text{绀脘菟敷} \text{グ} \div T \times 3 = 1.28 \times \Delta A V \text{ 健怵} \text{チ} \text{健疥位} \text{菟怵位} \text{秩} \text{コ} 1 \text{mL} \text{チ} \epsilon \text{チ} \text{NADH} \text{摺導塗元菟敷} \text{コ} 6.22 \times 10^3 \text{ L/mol/cm} \text{チ} d \text{チ} \text{每艘} \text{ 牌元伶} \text{コ} 1 \text{cm} \text{チ} V \text{ 棋} \text{チ} \text{副航棋膝位} \text{秩} \text{コ} 0.15 \text{ mL} \text{チ} V \text{ 棋怵} \text{チ} \text{副航摺发滓位} \text{秩} \text{コ} 1 \text{ mL} \text{チ} T \text{チ} \text{健疥} \text{ 肝问} \text{コ} 5 \text{ min} \text{チ} 3 \text{コ} \text{稔醯碗敷} \text{チ} \text{Cpr} \text{チ} \text{棋膝帖卒财浚庠} \text{コ} \text{mg/mL} \text{チ} W \text{チ} \text{棋膝财袖} \text{チ} \text{绀脘菟敷} \text{コ} 500 \text{ 丁} 丁$