

磷酸果糖激酶（PFK）活性检测试剂盒说明书

产品货号	产品名称	包装规格	测定方法
PMHB5-M48	磷酸果糖激酶（PFK）活性 检测试剂盒	48T	微量法
PMHB5-M96		96T	

一、测定意义：

磷酸果糖激酶（PFK）是植物糖酵解途径的关键限速酶，核心功能是催化果糖-6-磷酸磷酸化生成果糖-1,6-二磷酸，其活性直接决定糖酵解速率，进而影响植物呼吸供能、光合产物向淀粉/蔗糖的分配及次生代谢物合成。测定该酶活性可评估环境胁迫对植物碳代谢与能量供应的影响，是解析植物碳流调控机制、筛选高光效或抗逆作物品种的重要指标。

二、测定原理：

PFK 催化果糖-6-磷酸和 ATP 生成果糖-1,6-二磷酸和 ADP，丙酮酸激酶和乳酸脱氢酶进一步依次催化 NADH 氧化生成 NAD⁺，在 340nm 下测定 NADH 下降速率，即可反映 PFK 活性。

三、试剂组成：

试剂名称	试剂装量(48T)	试剂装量(96T)	保存条件
提取液	液体 60mL×1 瓶	液体 110mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂一	液体 10mL×1 瓶	液体 20mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂二	液体 5mL×1 瓶	液体 10mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂三	粉剂×1 支	粉剂×2 支	-20℃保存
试剂三的配制：每支加 1.5ml 试剂一，混合均匀，现用现配，配完-20℃可保存一周。			
试剂四	粉剂×1 支	粉剂×2 支	-20℃保存
试剂四的配制：每支加 1.5ml 试剂一，混合均匀，现用现配，配完-20℃可保存一周。			
试剂五	粉剂×1 支	粉剂×2 支	-20℃保存
试剂五的配制：每支加 1.2ml 水，混合均匀，现用现配，配完-20℃可保存一周。			
试剂六	粉剂×1 支	粉剂×2 支	-20℃保存
试剂六的配制：每支加 1.2ml 水，混合均匀，现用现配，配完-20℃可保存一周。			
试剂七	粉剂×1 瓶	粉剂×2 瓶	-20℃保存

试剂七的配制：每支加 5ml 水，混合均匀，现用现配，配完-20℃可保存一周。

工作液的配制：按试剂一：试剂二：试剂三：试剂四：试剂五：试剂六=3:2:1:1:1:1 的比例配制，混合均匀，现用现配。

四、操作步骤：

样本前处理

取一定量植物组织擦净水分及杂质，剪碎后放入研钵，加入液氮，研磨成粉状后转移出来，然后准确称重，按照组织质量（g）：提取液体积（mL）为 1：5~10 的比例（建议称取约 0.1g 组织，加入 1mL 提取液），旋涡混匀抽提 3-5 分钟或者使用组织破碎仪冰浴提取，8000g，4℃离心 10min，取上清，置冰上待测。

测定步骤

- 1.酶标仪预热 30min 以上，调节波长至 340nm。
- 2.测定前将试剂恢复至常温；
- 3.操作表（在 96 孔板中加入下列试剂）：

试剂名称	测定管	空管
样品（μL）	10	-
双蒸水（μL）	-	10
工作液（μL）	180	180
试剂七（μL）	20	20
记录 340nm 处 20s 时吸光值 A1 和 5min20s 时的吸光值 A2，计算 $\Delta A = A1_{测定} - A2_{测定}$ 。 $\Delta A_{空白} = A1_{空白} - A2_{空白}$ ； $\Delta A = \Delta A_{测定} - \Delta A_{空白}$ 。（空白管只做 1-2 管）		

五、磷酸果糖激酶（PFK）活性计算：

- 1、按样本鲜重计算：

单位定义：每克组织每分钟消耗 1nmol NADH 为一个酶活力单位。

计算公式： $PFK (nmol/g) = [\Delta A \times V_{反总} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (V_{样} \div V_{样总} \times W)$
 $\div T = 1125.40 \times \Delta A \div W$

- 2、按样本蛋白浓度计算：

单位定义：每毫克蛋白每分钟消耗 1nmol NADH 为一个酶活力单位。

计算公式: $\text{PFK (nmol/mg prot)} = [\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (V_{\text{样}} \times \text{Cpr})$

$$= 1125.40 \times \Delta A \div \text{Cpr}$$

$V_{\text{反总}}$: 反应体系总体积, $0.21 \times 10^{-3} \text{ L}$; ϵ : NADH 摩尔消光系数,

$6.22 \times 10^3 \text{ L/mol/cm}$; d : 比色皿光径, 0.6 cm ; $V_{\text{样}}$: 加入样本体积,

0.01 mL ; $V_{\text{样总}}$: 加入提取液体积, 1 mL ; T : 反应时间, 5 min ;

Cpr : 样本蛋白质浓度, mg/mL ; 10^9 : 单位换算系数, $1 \text{ mol} = 10^9 \text{ nmol}$;

W : 样本质量, g ;

六、注意事项:

实验之前建议选择 2-3 个预期差异大的样本做预实验。如果样本吸光值不在测量范围内建议稀释或者增加样本量进行检测。

【厂家信息】

生产企业: 南京陌凡生物科技有限公司

地址: 南京市栖霞区红枫科技园 A6 栋 2 层

【售后微信】



【说明书核准及修改日期】

核准日期: 2025 年 4 月 7 日

修改日期: 2025 年 4 月 7 日