

## 植物磷酸烯醇式丙酮酸羧激酶（PEPCK）检测试剂盒说明书

产品货号	产品名称	包装规格	测定方法
PMHC2-M48	磷酸烯醇式丙酮酸羧激酶 (PEPCK)活性检测试剂盒	48T	微量法
PMHC2-M96		96T	

### 一、测定意义：

磷酸烯醇式丙酮酸羧激酶（PEPCK）的测定在多个领域具有重要意义，在植物碳代谢中起重要作用，测定其活性有助于改良作物，提高产量和抗逆性。PEPCK 的测定在代谢研究、疾病诊断、药物研发、农业和基础研究等多个领域具有广泛应用。

### 二、测定原理：

PEPCK 催化草酰乙酸生成磷酸烯醇式丙酮酸和 CO<sub>2</sub>，丙酮酸激酶和乳酸脱氢酶进一步依次催化 NADH 氧化生成 NAD<sup>+</sup>，在 340nm 下测定 NADH 下降速率，即可反映 PEPCK 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 2ml 试剂一，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 2ml 试剂一，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 蒸馏水，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 蒸馏水，现用现配，配完-20℃可保存一周。			

试剂七	粉剂×1 支	粉剂×2 支	20℃保存
试剂七的配制：每支加 1ml 水配制母液，使用前再将母液 10 倍稀释使用，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，蒸馏水调零；
- 2、反应介质的配制：现用现配，按试剂二：试剂三：试剂四=3:1:1 的比例配制，用多少配多少。
- 3、工作液的配制：现用现配，按反应介质：试剂五：试剂六=3:1:1 的比例配制，用多少配多少。
- 4、操作表（在 96 孔板中加入以下试剂）：

试剂名称	测定管	空白管
样品 (μL)	10	-
双蒸水 (μL)	-	10
工作液 (μL)	180	180
试剂七 (μL)	10	10

记录 340nm 处 20s 时吸光值 A1 和 5min20s 时的吸光值 A2，计算  $\Delta A = A1_{\text{测定}} - A2_{\text{测定}}$ 。  $\Delta A_{\text{空白}} = A1_{\text{空白}} - A2_{\text{空白}}$ ；  
 $\Delta A = \Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}$ 。（空白管只做 1-2 管）

### 五、植物样本中磷酸烯醇式丙酮酸羧激酶（PEPCK）活性计算：

#### 1、按样本质量计算：

**单位定义：**每克组织每分钟消耗 1nmolNADH 为一个酶活力单位。

**计算公式:**  $PEPCK \text{ (nmol/min/g)} = [\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times W) \div T = 1071.81 \times \Delta A \div W$

2、按蛋白浓度计算：

**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:**  $PEPCK \text{ (nmol/min/mg prot)} = [\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (V_{\text{样}} \times C_{\text{pr}}) \div T = 1071.81 \times \Delta A \div C_{\text{pr}}$

$V_{\text{反总}}$ : 反应体系总体积,  $2 \times 10^{-4} \text{ L}$ ;  $\epsilon$ : NADH 摩尔消光系数,  $6.22 \times 10^3$

$\text{L/mol/cm}$ ;  $d$ : 比色皿光径,  $0.6 \text{ cm}$ ;  $V_{\text{样}}$ : 加入样本体积,  $0.01 \text{ mL}$ ;

$V_{\text{样总}}$ : 加入提取液体积,  $1 \text{ mL}$ ;  $T$ : 反应时间,  $5 \text{ min}$ ;  $10^9$ : 单位换

算系数,  $1 \text{ mol} = 10^9 \text{ nmol}$ ;  $W$ : 样本质量,  $\text{g}$ ;

## 六、注意事项:

样本测试前请选取 2 个预期差异最大的样本, 稀释成不同浓度进行

预试, 以选取最佳取样浓度。

## 【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