

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	48T	微量法
PMHC2-M96	（PEPCK）活性检测试剂盒	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_2 ，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 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 水配制成母液，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 A_1 和 5min20s 时的吸光值 A_2 ，计算 $\Delta A = A_{1\text{测定}} - A_{2\text{测定}}$ 。 $\Delta A_{\text{空白}} = A_{1\text{空白}} - A_{2\text{空白}}$ ； $\Delta A = \Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}$ 。（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：
$$\text{PEPCK (nmol/min/g)} = [\Delta A \times V_{\text{反应}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times W) \div T = 1071.81 \times \Delta A \div W$$

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

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

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

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

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