

## 丙酮酸激酶（PK）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
PMHE7-M48	丙酮酸激酶（PK）活性检测试剂盒说明书	48T	微量法
PMHE7-M96		96T	

### 一、测定意义：

丙酮酸激酶（PK）作为糖酵解途径的关键限速酶之一，催化磷酸烯醇式丙酮酸（PEP）转化为丙酮酸并伴随 ATP 生成，在植物能量代谢、碳同化及物质转化过程中发挥核心调控作用。测定植物丙酮酸激酶活性，可精准反映糖酵解途径的运行效率，为评估植物细胞能量供应状态、碳骨架分配模式及逆境响应机制提供重要参数，对揭示光合作用产物代谢流向、呼吸作用调控规律及抗逆生理特性具有关键意义，是植物生理生化研究、作物代谢改良及逆境适应性评价的重要检测指标。

### 二、测定原理：

丙酮酸激酶使磷酸烯醇式丙酮酸和 ADP 变为 ATP 和丙酮酸，丙酮酸再由乳酸脱氢酶转化为乳酸，进一步催化 NADH 生成 NAD<sup>+</sup>，NADH 在 340nm 有特征吸收峰，通过监测 NADH 的消耗速率间接反映丙酮酸激酶的酶活性。

### 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	粉剂 ×1 支	粉剂 ×2 支	-20℃保存
<b>试剂二的配制：</b> 每支加 1ml 双蒸水，充分混匀，现用现配。			
试剂三	粉剂 ×1 支	粉剂 ×2 支	-20℃保存
<b>试剂三的配制：</b> 每支加 1ml 双蒸水，充分混匀，现用现配。			
试剂四	粉剂 ×1 支	粉剂 ×2 支	2-8℃保存
<b>试剂四的配制：</b> 每支加 1ml 双蒸水，充分混匀，现用现配。			
试剂五	液体 ×1 支	液体 ×2 支	-20℃保存
<b>试剂五：</b> 每支加 0.2ml 双蒸水，充分混匀，现用现配。			

**工作液的配制：**按试剂一：试剂二：试剂三：试剂四：试剂五=85μL:5μL:5μL:2μL:1μL 的比例配制，用多少配多少。

### 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 UV 板中加入以下试剂）：

试剂名称	测定管	空管
样品 (μL)	20	-
双蒸水 (μL)	-	20
工作液 (μL)	180	180

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

### 五、丙酮酸激酶（PK）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 1nmolNADH 为一个酶活力单位。

**计算公式：**PK (U/g) =  $[\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{总}} \times W) \div T = 536 \times \Delta A \div W$

2、按样本蛋白浓度计算：

**单位定义：**每毫克蛋白每分钟消耗 1nmolNADH 为一个酶活力单位。

**计算公式:**  $PK \text{ (U/mg prot)} = [\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (V_{\text{样}} \times C_{\text{pr}})$

$$\div T = 536 \times \Delta A \div C_{\text{pr}}$$

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

$6.22 \times 10^3 \text{ L/mol/cm}$ ;  $d$ : 96 孔 UV 板光径,  $0.6 \text{ cm}$ ;  $V_{\text{样}}$ : 加入样本体

积,  $0.02 \text{ mL}$ ;  $V_{\text{样总}}$ : 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:

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