

## 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	48T	微量法
PMHE7-M96	检测试剂盒说明书	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  $\text{NAD}^+$ ，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
试剂二的配制：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
试剂三的配制：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
试剂四的配制：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
试剂五：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

- 酶标仪预热 30min 以上，调节波长至 340nm；
- 测定前将试剂恢复至常温；
- 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 $\Delta A = A1_{\text{测定}} - A2_{\text{测定}}$ ， $\Delta A_{\text{空白}} = A1_{\text{空白}} - A2_{\text{空白}}$ ； $\Delta A = \Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}$ 。（空白管只做 1-2 管）		

### 五、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：** $\text{PK (U/g)} = [\Delta A \times V_{\text{反应}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times W) \div T = 536 \times \Delta A \div W$

#### 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 (U/mg prot) =  $[\Delta A \times V_{\text{反应}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (V_{\text{样}} \times C_{\text{pr}})$

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

$V_{\text{反应}}$ ：反应体系总体积， $2 \times 10^{-4}$  L； $\epsilon$ ：NADH 摩尔消光系数， $6.22 \times 10^3$  L/mol/cm； $d$ ：96 孔 UV 板光径，0.6cm； $V_{\text{样}}$ ：加入样本体积，0.02mL； $V_{\text{样总}}$ ：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：

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