

## 己糖激酶(HK)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
PYFC6-M48	己糖激酶(HK)活性检测 试剂盒	48T	微量法
PYFC6-M96		96T	

### 一、测定意义：

己糖激酶 (HK) 作为糖代谢关键限速酶，其测定意义重大。它不仅参与植物碳代谢网络调控，反映植物对碳源的利用效率与能量代谢状态，还可作为植物抗逆性生理指标，体现植物在干旱、低温等胁迫下碳水化合物分配与逆境适应能力，同时在种子萌发、果实成熟等植物生长发育过程中也发挥重要调控作用，有助于解析其代谢基础。

### 二、测定原理：

己糖激酶 (HK) 通过葡萄糖- 6 -磷酸脱氢酶 (G6PDH) 催化葡萄糖- 6 -磷酸 (G6P) 氧化脱氢，同时使辅酶 NADP<sup>+</sup>还原为 NADPH，后者在 340 nm 处具有特征吸收峰。通过监测单位时间内 NADPH 生成量的变化 ( $\Delta A_{340/min}$ )，即可定量 HK 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°C 保存
试剂一	液体 10mL×1 瓶	液体 20mL×1 瓶	2-8°C 保存
试剂二	粉剂 ×1 瓶	粉剂 ×2 瓶	2-8°C 保存
试剂二：每支加 5ml 双蒸水，混合均匀，现用现配。			
试剂三	粉剂 ×1 瓶	粉剂 ×2 瓶	-20°C 保存
试剂三：每支加 3ml 双蒸水，混合均匀，现用现配。			
试剂四	粉剂 ×1 支	粉剂 ×2 支	2-8°C 保存
试剂四：每支加 1ml 双蒸水，现用现配，配完-20°C 可保存一周。			
试剂五	粉剂 ×1 支	粉剂 ×2 支	-20°C 保存
试剂五：每支加 0.2ml 双蒸水，现用现配，配完-20°C 保存。			

注：工作液的配制：现用现配，按试剂一：试剂二：试剂三：试剂四：试剂五=64μL:20μL:10μL:3μL:1μL 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°C 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. 测定前将试剂恢复至常温：

3. 操作表：(在 96 孔板中依次加入以下试剂)

试剂名称	测定管	空管
样品 (μL)	10	-
双蒸水 (μL)	-	10
工作液 (μL)	190	190

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

#### 五、己糖激酶(HK)活性计算：

1、按样本鲜重计算：

**单位定义：**每克组织每分钟生成 1nmol NADPH 为一个酶活力单位。

**计算公式：**HK (U/g) =  $\frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\varepsilon \times d) \times 10^9}{(V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \times W} \div T = 1071.81 \times \Delta A \div W$

2、按样本蛋白浓度计算：

**单位定义：**每毫克蛋白每分钟生成 1nmolNADPH 为一个酶活力单位。

**计算公式：**HK (U/mg prot) =  $\frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\varepsilon \times d) \times 10^9}{(V_{\text{样}} \times C_{\text{pr}}) \div T = 1071.81 \times \Delta A \div C_{\text{pr}}}$

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

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, 1mol=10<sup>9</sup>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