

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⁺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（ $\Delta A_{340}/\text{min}$ ），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℃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 瓶	粉剂 ×2 瓶	2-8℃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℃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℃保存
试剂四：每支加 1ml 双蒸水，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：每支加 0.2ml 双蒸水，现用现配，配完-20℃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℃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）= $[\Delta A \times V_{\text{反应}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times W)$
 $\div T = 1071.81 \times \Delta A \div W$

- 2、按样本蛋白浓度计算：

单位定义：每毫克蛋白每分钟生成 1nmol NADPH 为一个酶活力单位。

计算公式：HK（U/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 ：NADPH 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:

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