



丙酮酸磷酸双激酶活性检测试剂盒

PPDK Assay Kit

紫外分光光度法

产品编号: AK513U

产品规格: 50T/48S

产品组成及保存条件:

编号	规格	储存条件
ES513	60mL×1 瓶	4℃保存；
AK513-A	60mL×1 瓶	4℃保存；
AK513-B	粉剂×2 瓶	-20℃保存；
AK513-C	60μL×1 支	4℃保存；体积较少，若沾在管壁上，临用前可低速离心后使用。

※ 正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定。

简介:

意义: 丙酮酸磷酸双激酶 (pyruvate phosphate dikinase, PPDK, EC 2.7.9.1) 是 C4 途径和景天科酸代谢途径的限速酶，催化 ATP、丙酮酸和 Pi 经三步反应生成磷酸烯醇式丙酮酸。该酶主要存在于 C4 植物的叶绿体基质中，对光合功能具有重要调节作用。

原理: PPDK 的逆向反应催化磷酸烯醇式丙酮酸、AMP 和 PPi 生成丙酮酸、ATP 和 Pi，乳酸脱氢酶进一步催化丙酮酸和 NADH 生成乳酸和 NAD⁺，在 340nm 测定 NADH 减少速率，计算 PPDK 活性。

自备用品:

紫外分光光度计、台式离心机、可调式移液器、1mL 石英比色皿、研钵、冰和蒸馏水。

酶液提取:

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 ES513），进行冰浴匀浆。
12000g，4℃离心 10min，取上清，置冰上待测。

测定步骤:

1. 分光光度计预热 30min 以上，调节波长至 340nm，蒸馏水调零。
2. 工作液的配制：临用前取 AK513-B 一瓶加入 25mL AK513-A 和 12.5μL AK513-C，充分混匀，置于 37℃水浴 5min；用不完的试剂分装后-20℃保存，禁止反复冻融。
3. 在 1mL 石英比色皿中加入下列试剂：

试剂名称	测定管 (ul)
样本	50
工作液	950

混匀，立即记录 340nm 处初始吸光值 A1 和 37℃反应 5min 后的吸光值 A2，
计算 $\Delta A = A1 - A2$ 。

PPDK 活性计算:

1. 按样本蛋白浓度计算

单位定义：每 mg 组织蛋白每分钟消耗 1nmol NADH 定义为一个酶活力单位。

$$\text{PPDK (U/mg prot)} = [\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (V_{\text{样}} \times C_{\text{pr}}) \div T = 643 \times \Delta A \div C_{\text{pr}}$$

2. 按样本鲜重计算

单位定义：每 g 组织每分钟消耗 1 nmol NADH 定义为一个酶活力单位。

$$\text{PPDK (U/g 鲜重)} = [\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{总}}) \div T = 643 \times \Delta A \div W$$

注: V 反总: 反应体系总体积, 1×10^{-3} L; ϵ : NADH 摩尔消光系数, 6.22×10^3 L / mol / cm; d: 比色皿光径, 1cm;
V 样: 加入样本体积, 0.05mL; V 样总: 加入提取液体积, 1 mL; T: 反应时间, 5 min; Cpr: 样本蛋白质浓度,
mg/mL; W: 样本质量, g。