

Phosphoenolpyruvate Carboxylase (PEPC) Activity Assay Kit

磷酸烯醇式丙酮酸羧化酶(PEPC)活性检测试剂盒 微板法

产品编号	产品名称	规格
BL1377B	磷酸烯醇式丙酮酸羧化酶(PEPC)活性检测试剂盒 微板法	96T

产品简介:

磷酸烯醇式丙酮酸羧化酶 (PEPC, EC 4.1.1.31) 广泛存在于植物和微生物中, 是 C₄ 植物和 CAM 植物光合碳代谢的关键酶, 起着固定环境中 CO₂ 的作用, 对三羧酸循环的运转起重要调节作用。PEPC 催化 PEP 和 CO₂ 羧化形成草酰乙酸的不可逆反应, 此酶在光合碳同化、呼吸作用和物质代谢等方面均有重要作用。

PEPC 催化磷酸烯醇式丙酮酸 (PEP) 和 CO₂ 生成草酰乙酸, 苹果酸脱氢酶进一步催化草酰乙酸和 NADH 生成苹果酸和 NAD⁺, 通过测定 NADH 在 340nm 下的减少速率, 即可计算出 PEPC 酶活性大小。

产品组成:

试剂名称	规格	保存要求	备注
提取液	液体 100mL×1 瓶	4°C 保存	
试剂一	粉末×2 支	-20°C 保存	用前甩几下或离心使试剂落入底部, 再加 1.1mL 蒸馏水溶解, 用不完的试剂分装后-20°C 保存, 禁止反复冻融, 三天内用完。
试剂二	液体 15mL×1 瓶	4°C 保存	
试剂三	粉末×1 支	-20°C 保存	用前甩几下或离心使试剂落入底部, 再加 2.1mL 蒸馏水溶解备用

使用方法:

建议正式实验前, 选取 2 个样本做预测定, 了解实验样品情况, 熟悉流程, 避免样本和试剂浪费!

一、样本准备:

1. 组织样本:

- (a) 称取约 0.1g 组织, 加入 1mL 提取液, 进行冰浴匀浆;
- (b) 10000-12000g, 4°C 离心 10min, 取上清, 置冰上待测。

【注】: 可以按照组织质量 (g) : 提取液体积(mL)为 1: 5~10 的比例提取。

二、样品测定:

1. 酶标仪预热 30min, 设定波长到 340nm。
2. 所有试剂解冻至室温 (25°C), 试剂二和三可按测定样本数量提前混合 (混合比例依据依据加样表) (现配现用)。
3. 在 1mL 石英比色皿 (光径 1cm) 中依次加入:

试剂名称 (μL)	测定管
-----------	-----

Note: For in vitro research use only, not for diagnostic or therapeutic use, This product is not a medical device.
注意: 在体外研究使用, 不用于诊断或治疗用途, 本产品不是医疗装置。



样本	20
试剂一	20
试剂二	140
试剂三	20
轻轻混匀，室温（25℃）条件下，于 340nm 处读取吸光值 A，1min 后读取吸光值 A1，15min 后读取 A2， $\Delta A=A1-A2$ 。	

- 【注】：**1. 若 ΔA 的值在零附近，可以适当延长反应时间到 25min 后读取 A2，改变后的反应时间需代入计算公式重新计算。或加大样本量（如增加到 30-50 μ L），则改变后的加样体积需代入计算公式重新计算。
2. 若起始值 A1 太大如超过 2（如颜色较深的植物叶片，一般色素较高，则起始值相对会偏高），可以适当减少样本加样量，则改变后的加样体积需代入计算公式重新计算。或向待测样本中加少许活性炭混匀静置 5min 后 12000rpm, 4℃离心 10min，上清液用于检测；
3. 若 ΔA 的值大于 0.4，则需减少反应时间（如减少至 5min），则改变后的反应时间 T 需代入计算公式重新计算。
4. 若下降趋势不稳定，可以每隔 10S 读取一次吸光值，选取一段线性下降的时间段来参与计算，相对应的 A 值也代入计算公式重新计算。

三、结果计算

1. 按样本蛋白浓度计算：

酶活定义：每毫克组织蛋白每分钟消耗 1nmol NADH 定义为一个酶活力单位。

$$\text{PEPC}(\text{nmol}/\text{min}/\text{mg prot}) = [\Delta A \div (\epsilon \times d) \times 10^9 \times V2] \div (V1 \times \text{Cpr}) \div T$$

$$= 214.4 \times \Delta A \div \text{Cpr}$$

2. 按样本鲜重计算：

酶活定义：每克组织每分钟消耗 1 nmol NADH 定义为一个酶活力单位。

$$\text{PEPC}(\text{nmol}/\text{min}/\text{g 鲜重}) = [\Delta A \div (\epsilon \times d) \times 10^9 \times V2] \div (W \times V1 \div V) \div T$$

$$= 214.4 \times \Delta A \div W$$

V--提取液体积，1 mL

d--光径，0.5cm

ϵ --NADH 摩尔消光系数， $6.22 \times 10^3 \text{ L}/\text{mol}/\text{cm}$

T--反应时间，15min

V1--加入样本体积，0.02mL

V2--反应体系总体积， $2 \times 10^{-4} \text{ L}$

W--样本质量，g

Cpr--蛋白浓度（mg/mL）

注意事项：

- 1、本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品。
- 2、为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

有效期：

-20℃保存三个月。

