

## 磷酸果糖激酶（PFK）活性测试盒

紫外比色法 50T/48 样

### 一、测定原理

PFK 催化果糖-6-磷酸和 ATP 生成果糖-1,6-二磷酸和 ADP，丙酮酸激酶和乳酸脱氢酶进一步依次催化 NADH 氧化生成 NAD<sup>+</sup>，在 340 nm 下测定 NADH 下降速率，即可反应 PFK 活性。

### 二、自备仪器用品

离心机、紫外分光光度、水浴锅、1ml 石英比色皿、移液枪、研钵、冰和蒸馏水

### 三、试剂组成和配制

提取液：60ml×1 瓶, 4℃保存

试剂一：40ml×1 瓶, 4℃保存

试剂二：粉剂×1 瓶, -20℃保存，临用前加 2.8ml 蒸馏水充分溶解，用不完的试剂-20℃分装保存不能反复冻融

试剂三：粉剂×1 支, 4℃保存，临用前加 0.26ml 蒸馏水充分溶解，用不完的试剂-20℃分装保存不能反复冻融

试剂四：液体×1 支, 4℃保存，临用前加 0.26ml 蒸馏水充分溶解，用不完的试剂-20℃分装保存不能反复冻融

### 四、样品前处理

样本提取详见试剂盒内说明书。测定组织和细胞需要测定蛋白浓度。可用总蛋白定量测试盒（考马斯亮蓝法）或者总蛋白定量测试盒(BCA 法)进行蛋白浓度的测定。

### 五、测定步骤

试剂名称 (μl)	测定管
工作液	800
样本	30
试剂三	5
试剂四	5

将上述试剂按照顺序加入 1ml 石英比色皿中，立即混匀，加试剂四的同时△开始计时，记录在 340nm 波长下 20 秒时的初始吸光度 A1 和 10 分 20 秒时的吸光度 A2，  
计算  $A = A1 - A2$

