

丙酮酸激酶（PK）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 |
|-----------|---------------------|------|------|
| AMHB9-C24 | 丙酮酸激酶（PK）活性检测试剂盒说明书 | 24T | 常量法 |
| AMHB9-C48 | | 48T | |

一、测定意义：

丙酮酸激酶（PK）是动物体内糖酵解途径的关键限速酶，主要催化磷酸烯醇式丙酮酸（PEP）与ADP生成ATP和丙酮酸，为红细胞代谢、肌肉收缩等依赖糖酵解供能的组织提供核心能量，其活性直接反映细胞糖酵解效率与能量代谢状态。测定动物体内PK活性，可辅助诊断因酶缺陷引发的溶血性贫血，也能评估肝脏损伤、肿瘤等疾病中细胞能量代谢的异常程度，为疾病诊断与病情监测提供关键指标。

二、测定原理：

丙酮酸激酶使磷酸烯醇式丙酮酸和ADP变为ATP和丙酮酸，丙酮酸再由乳酸脱氢酶转化为乳酸，进一步催化NADH生成NAD⁺，NADH在340nm有特征吸收峰，通过监测NADH的消耗速率间接反映丙酮酸激酶的酶活性。

三、试剂组成：

| 试剂名称 | 试剂装量(24T) | 试剂装量(48T) | 保存条件 |
|--|-------------|-------------|--------|
| 提取液 | 液体 30mL×1 瓶 | 液体 60mL×1 瓶 | 2-8℃保存 |
| 试剂一 | 液体 30mL×1 瓶 | 液体 60mL×1 瓶 | 2-8℃保存 |
| 试剂二 | 粉剂 ×1 支 | 粉剂 ×2 支 | -20℃保存 |
| 试剂二配制： 每支粉剂加1.5ml双蒸水，混合均匀，现用现配。 | | | |
| 试剂三 | 粉剂 ×1 支 | 粉剂 ×2 支 | -20℃保存 |
| 试剂三配制： 每支粉剂加1.5ml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 |
| 试剂四配制： 每支加1.5ml双蒸水，混合均匀，现用现配。 | | | |
| 试剂五 | 粉剂 ×1 支 | 粉剂 ×1 支 | -20℃保存 |

试剂五配制：每支粉剂加0.2ml双蒸水，混合均匀，现用现配。

工作液的配制：混合均匀，现用现配，按试剂一：试剂二：试剂三：试剂四：试剂五=85μL:5μL:5μL:2μL:1μL的比例配制，用多少配多少。

四、操作步骤：

样本前处理

1、组织：按照组织质量(g):提取液(mL)为1:10的比例（建议称取0.1g组织，加入1mL提取液）进行冰浴匀浆。5000 rpm, 4℃离心10 min，取上清置冰上待测。

2、细菌、细胞：按照细胞数量10⁴个：提取液体积(mL) 500~1000:1的比例（建议500万细胞加入1mL提取液），冰浴超声波破碎细胞（功率300w，超声3s，间隔7s，总时间3min），5000 rpm, 4℃离心10min，取上清置冰上待测。

3、血清（浆）等液体：直接测定。

测定步骤

1 酶标仪预热30min以上，调节波长至340nm；

2. 测定前将试剂恢复至常温；

3. 操作表（在96孔UV板中加入以下试剂）：

| 试剂名称 | 测定管 | 空管 |
|---------|-----|-----|
| 样品(μL) | 20 | - |
| 双蒸水(μL) | - | 20 |
| 工作液(μL) | 180 | 180 |

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

五、丙酮酸激酶（PK）活性计算：

1. 液体样本丙酮酸激酶（PK）计算

单位定义：每毫升液体每分钟消耗1nmol NADH的量为一个酶活力单位。

计算公式: $PK \text{ (nmol/mL)} = [\Delta A \times V_{\text{总}} \div (\varepsilon \times d) \times 10^9] \div V_{\text{样}} \div T = 322 \times \Delta A$

2、组织、细胞样本丙酮酸激酶 (PK) 计算

(1)按样本鲜重计算:

单位定义: 每克组织每分钟消耗 1nmolNADH 为一个酶活单位。

计算公式: $PK \text{ (nmol/min/g)} = [\Delta A \times V_{\text{总}} \div (\varepsilon \times d) \times 10^9] \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{总}} \times W) \div T = 322 \times \Delta A$

(2)按样本蛋白浓度计算:

单位定义: 每毫克蛋白每分钟消耗 1nmol NADH 为一个酶活单位。

计算公式: $PK \text{ (nmol/min/mg prot)} = [\Delta A \times V_{\text{总}} \div (\varepsilon \times d) \times 10^9] \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{总}} \times C_{\text{pr}}) \div T = 322 \times \Delta A$

(3)按细菌或细胞数量计算:

单位定义: 每 1 百万个细菌或细胞每分钟消耗 1 nmol NADH 为一个

酶活单位。

计算公式: $PK \text{ (nmol/10}^6 \text{ cell)} = [\Delta A \times V_{\text{总}} \div (\varepsilon \times d) \times 10^9] \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{总}} \times 5) \div T = 64 \times \Delta A$

$V_{\text{总}}$: 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; $V_{\text{样}}$: 加入样本体积, 0.1mL;

$V_{\text{总}}$: 加入提取液体积, 1mL; T : 反应时间, 5min; C_{pr} : 样本蛋

白质浓度, mg/mL; 10^9 : 单位换算系数, 1mol=10⁹nmol; W : 样本

质量, g; 500: 细菌或细胞总数, 500 万。

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。

【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

【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