

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	24T	常量法
AMHB9-C48	检测试剂盒说明书	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 0.1 g 组织，加入 1 mL 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 10^4 个：提取液体积（mL）500~1000:1 的比例（建议 500 万细胞加入 1 mL 提取液），冰浴超声波破碎细胞（功率 300w，超声 3s，间隔 7s，总时间 3 min），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： $PK\text{ (nmol/mL)} = [\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div V_{\text{样}} \div T = 322 \times \Delta A$

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： $PK\text{ (nmol/min/g)} = [\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times W) \div T = 322 \times \Delta A$

(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： $PK\text{ (nmol/min/mg prot)} = [\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (V_{\text{样}} \times Cpr) \div T = 322 \times \Delta A$

(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： $PK\text{ (nmol/10}^6\text{ cell)} = [\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times 5) \div T = 64 \times \Delta A$

$V_{\text{反总}}$ ：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； $V_{\text{样}}$ ：加入样本体积，0.1mL； $V_{\text{样总}}$ ：加入提取液体积，1mL； T ：反应时间，5min； Cpr ：样本蛋白质浓度，mg/mL； 10^9 ：单位换算系数， $1\text{mol}=10^9\text{nmol}$ ； 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