

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-M48	丙酮酸激酶（PK）活性	48T	微量法
AMHB9-M96	检测试剂盒说明书	96T	

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(48T)	试剂装量(96T)	保存条件
提取液	液体 60mL×1 瓶	液体 110mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂一	液体 10mL×1 瓶	液体 20mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂二	粉剂 ×1 支	粉剂 ×2 支	-20℃保存
试剂二的配制： 每支加 1ml 双蒸水，充分混匀，现用现配。			
试剂三	粉剂 ×1 支	粉剂 ×2 支	-20℃保存
试剂三的配制： 每支加 1ml 双蒸水，充分混匀，现用现配。			
试剂四	粉剂 ×1 支	粉剂 ×2 支	2-8℃保存
试剂四的配制： 每支加 1ml 双蒸水，充分混匀，现用现配。			
试剂五	液体 ×1 支	液体 ×2 支	-20℃保存
试剂五： 每支加 0.2ml 双蒸水，充分混匀，现用现配。			
工作液的配制： 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 10⁴ 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 1nmolNADH 的量为一个酶活单位。

计算公式：PK（U/mL）= $[\Delta A \times V_{\text{反应}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div V_{\text{样}} \div T = 536 \times \Delta A$

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 1nmol NADH 为一个酶活单位。

计算公式: $PK(U/g) = [\Delta A \times V_{\text{反应}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times W)$

$\div T = 536 \times \Delta A \div W$

(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: $PK(U/mg \text{ prot}) = [\Delta A \times V_{\text{反应}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (V_{\text{样}} \times Cpr)$

$\div T = 536 \times \Delta A \div Cpr$

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

$\div T$

$= 107 \times \Delta A$

$V_{\text{反应}}$: 反应体系总体积, $2 \times 10^{-4} \text{ L}$; ϵ : NADH 摩尔消光系数,

$6.22 \times 10^3 \text{ L/mol/cm}$; d : 比色皿光径, 0.6cm; $V_{\text{样}}$: 加入样本体积,

0.02mL; $V_{\text{样总}}$: 加入提取液体积, 1mL; T : 反应时间, 5min; 10^9 :

单位换算系数, $1 \text{ mol} = 10^9 \text{ nmol}$; W : 样本质量, g; 5: 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。

**【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

【售后微信】