

## 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<sup>+</sup>，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 10<sup>4</sup> 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 prot) =  $[\Delta A \times V_{\text{反应}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (V_{\text{样}} \times C_{\text{pr}})$

$\div T = 536 \times \Delta A \div C_{\text{pr}}$

**(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<sup>6</sup> 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， $2 \times 10^{-4}$  L； $\epsilon$ ：NADH 摩尔消光系数，

$6.22 \times 10^3$  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，1mol=10<sup>9</sup>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】**