

## 己糖激酶(HK)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
AMHC1-C24	己糖激酶(HK)活性检测试剂盒	24T	常量法
AMHC1-C48		48T	

### 一、测定意义：

己糖激酶（HK）作为葡萄糖代谢的关键限速酶，其测定具有重要意义。它是糖酵解、糖异生等代谢途径的起始调控点，活性变化可反映细胞对葡萄糖的摄取与利用效率，直接关联能量供应状态。在病理研究中，HK 活性异常与糖尿病、肿瘤等疾病紧密相关：糖尿病时胰岛素抵抗导致 HK 活性改变，影响血糖稳态；肿瘤细胞通过上调 HK 活性增强糖酵解，为恶性增殖提供能量和生物合成原料。此外，HK 测定还可用于评估动物营养代谢状况、应激反应及药物干预效果，为疾病诊断、治疗和生理机制研究提供关键依据。

### 二、测定原理：

己糖激酶（HK<sub>1</sub>）通过葡萄糖-6-磷酸脱氢酶（G6PDH）催化葡萄糖-6-磷酸（G6P）氧化脱氢，同时使辅酶 NADP<sup>+</sup>还原为 NADPH，后者在 340 nm 处具有特征吸收峰。通过监测单位时间内 NADPH 生成量的变化（ΔA<sub>340</sub>/min），即可定量 HK 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 20mL×1 瓶	液体 40mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂二	粉剂 ×1 瓶	粉剂 ×2 瓶	-20℃保存
试剂二：每支加 5ml 双蒸水，现用现配。			
试剂三	液体 3mL×1 瓶	液体 6mL×1 瓶	-20℃保存
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，现用现配，配完-20℃可保存一周。			
试剂五	粉剂 ×1 支	粉剂 ×2 支	-20℃保存
试剂五的配制：每支加 0.3ml 双蒸水，现用现配，配完-20℃保存。			
工作液的配制：现用现配，按试剂一：试剂二：试剂三：试剂四：试剂五=64μL:20μL:10μL:3μL: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）:提取液体积(mL)为 1:5~10 的比例（建议称取 0.1 g 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 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.分光光度计预热 30min 以上，调节波长至 340nm，蒸馏水调零；
- 2.测定前将试剂恢复至常温；
- 3.操作表（在玻璃比色皿中加入以下试剂）：

试剂名称	测定管	空白管
样品（μL）	50	-
双蒸水（μL）	-	50
工作液（μL）	950	950
记录 340nm 处 20s 时吸光值 A <sub>1</sub> 和 5min20s 时的吸光值 A <sub>2</sub> ，计算 $\Delta A_{\text{测定}} = A_{2\text{测定}} - A_{1\text{测定}}$ 。 $\Delta A_{\text{空白}} = A_{2\text{空白}} - A_{1\text{空白}}$ ； $\Delta A = \Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}$ 。（空白管只做 1-2 管）		

### 五、己糖激酶(HK)活性计算：

#### 1、液体样本己糖激酶(HK)计算

**单位定义：**每毫升液体每分钟消耗 1nmol NADPH 的量为一个酶活力单位。

**计算公式：**HK（nmol/min/mL）=  $[\Delta A \times V_{\text{反应}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div V_{\text{样}} \div T$   
= 1071.81 × ΔA

#### 2、组织、细胞样本己糖激酶(HK)计算

(1)按样本鲜重计算:

**单位定义:** 每克组织每分钟消耗 1nmol NADPH 为一个酶活力单位。

**计算公式:**  $HK (nmol/min/g) = [\Delta A \times V_{反总} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (V_{样} \div V_{样总} \times W) \div T = 1071.81 \times \Delta A \div W$

(2)按样本蛋白浓度计算:

**单位定义:** 每毫克蛋白每分钟消耗 1nmolNADPH 为一个酶活力单位。

**计算公式:**  $HK (nmol/min/mg prot) = [\Delta A \times V_{反总} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (V_{样} \times Cpr) \div T = 1071.81 \times \Delta A \div Cpr$

(3)按细菌或细胞数量计算:

**单位定义:** 每 1 万个细菌或细胞每分钟消耗 1 nmol NADPH 为一个酶活力单位。

**计算公式:**  $HK (nmol/min/10^4 cell) = [\Delta A \times V_{反总} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (V_{样} \div V_{样总} \times 500) \div T = 2.14 \times \Delta A$

$V_{反总}$ : 反应体系总体积,  $1 \times 10^{-3}L$ ;  $\epsilon$ : NADPH 摩尔消光系数,  $6.22 \times 10^3$

L/mol/cm; d: 比色皿光径, 1cm;  $V_{样}$ : 加入样本体积, 0.05mL;

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

系数,  $1mol=10^9nmol$ ; 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。

## 【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】



## 【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