

葡萄糖激酶(GK)试剂盒出（微板法）

产品货号：BA2750

产品规格：96样

产品简介：

葡萄糖激酶(GK, EC 2.7.1.2)是己糖激酶家族中的一员，主要存在于成熟的肝细胞和胰岛细胞中。在正常的生理条件下，GK的主要作用是监控血中葡萄糖水平。

葡萄糖激酶(GK)磷酸化葡萄糖并产生6-磷酸葡萄糖，该产物进一步与6-磷酸葡萄糖脱氢酶和NADP⁺偶联，在340nm测NADPH光吸收增加量，进而计算出该酶活性大小。

产品组成：

产品名称	规格	保存条件	备注
提取液	液体120mL×1瓶	2-8℃	
试剂一	液体20mL×1瓶	2-8℃	
试剂二	粉剂μg×1支	-20℃	临用前甩几下或离心使粉剂落入底部，再加1.1mL的蒸馏水溶解备用。
试剂三	粉剂mg×1支	2-8℃	临用前甩几下或离心使粉剂落入底部，再加18mL的试剂一溶解备用。

所需的仪器和用品：

酶标仪、96孔板、恒温水浴锅、台式离心机、可调式移液器、研钵、冰和蒸馏水。

葡萄糖激酶(GK)活性测定：

建议正式实验前选取2个样本做预测定，了解本批样品情况，熟悉实验流程，避免实验样本和试剂浪费！

1、样本制备：

① 组织样本：称取约0.1g组织，加入1mL提取液，进行冰浴匀浆。12000rpm，4℃离心10min，取上清，置冰上待测。

【注】：若增加样本量，可以按照组织质量(g):提取液体积(mL)为1:5~10的比例提取。

② 细菌/细胞样本：先收集细菌或细胞到离心管内，离心后弃上清；取500万细菌或细胞加入1mL提取液；冰浴超声波破碎细菌或细胞(冰浴，功率20%或200W，超声3s，间隔10s，重复30次)；12000rpm，4℃离心10min，取上清，置冰上待测。

【注】：若增加样本量，可按照细菌或细胞数量(10⁴个):提取液体积(mL)为500~1000:1的比例进行提取。

③ 液体样本：直接检测。若浑浊，离心后取上清检测。

2、上机检测：

① 酶标仪预热30min以上，调节波长至340nm。

② 配置好的试剂二和三在25℃预热5min至室温；

③ 在96孔板中依次加入：

试剂 (μL)	测定管
样本	20
试剂二	10



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司
Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话：400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱：saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com

试剂三	170
混匀，1min时于340nm处读取吸光值A1，21min(即20min后)读取A2，AA=A2-A1。	

【注】1.若 ΔA 小于0.01附近，可以适当延长反应时间到30min或更长读取A2，改变后的反应时间需代入计算公式重新计算。或适当加大样本量，则改变后的加样体积V1需代入计算公式重新计算。

2.若上升趋势不稳定，可以每隔10S读取一次吸光值，选取一段线性上升的时间段来参与计算，相对应的A值也代入计算公式重新计算。

结果计算：

1、按样本蛋白浓度计算

单位定义：每毫克组织蛋白每分钟生成1nmol的NADPH定义为一个酶活力单位。

葡萄糖激酶(GK)(nmol/min/mg prot)=[$\Delta A \div (\epsilon \times d) \times V2 \times 10^9 \div (V1 \times Cpr) \div T$]=160.77 $\times \Delta A \div Cpr$

2、按样本鲜重计算

单位定义：每g组织每分钟生成1nmol的NADPH定义为一个酶活力单位。

葡萄糖激酶(GK)(nmol/min/g 鲜重)=[$\Delta A \div (\epsilon \times d) \times V2 \times 10^9 \div (W \times V1 \div V) \div T$]=160.77 $\times \Delta A \div W$

3、按细菌或细胞密度计算

单位定义：每1万个细菌或细胞每分钟生成1nmol的NADPH定义为一个酶活力单位。

葡萄糖激酶(GK)(nmol/min/10⁴cell)=[$\Delta A \div (\epsilon \times d) \times V2 \times 10^9 \div (500 \times V1 \div V) \div T$]=0.32 $\times \Delta A$

4、按液体体积计算

单位定义：每毫升液体在每分钟生成1nmol的NADPH定义为一个酶活力单位。

葡萄糖激酶(GK)(nmol/min/mL)=[$\Delta A \times V_{反总} \div (\epsilon \times d) \times 10^9 \div V1 \div T$]=160.77 $\times \Delta A$

ϵ ---NADPH摩尔消光系数，6.22 $\times 10^3$ L/mol /cm； d---96孔板光径，0.5cm；

V---加入提取液体积，1mL；

V1---加入样本体积，0.02mL；

V2---反应体系总体积，2 $\times 10^{-4}$ L；

T---反应时间，20min；

W---样本质量，g；

500---细菌或细胞总数，500万；

Cpr---样本蛋白质浓度，mg/mL；建议使用本公司的BCA蛋白含量检测试剂盒。



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司
Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话：400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱：saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com