

丙酮酸激酶活性测定试剂盒(分光光度法)

产品货号: BA3259

产品规格: 50T

产品简介:

PK (EC 2.7.1.40) 广泛存在于动物、植物、微生物和培养细胞中, 催化糖酵解过程中的最后一步反应, 是糖酵解过程中的主要限速酶之一, 也是产生ATP的关键酶之一, 因此测定PK活性具有重要意义。PK催化磷酸烯醇式丙酮酸和ADP生成ATP和丙酮酸, 乳酸脱氢酶进一步催化NADH和丙酮酸生成乳酸和NAD⁺, 在340nm下测定NADH下降速率, 即可反映PK活性。

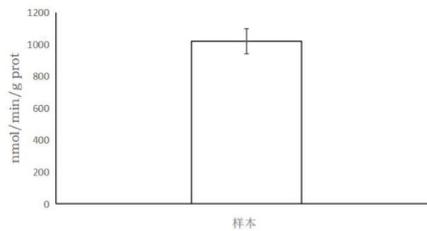


图1本试剂盒检测样本的效果图。不同的检测条件下, 实际读数会因检测仪器的不同存在差异, 图中数据仅供参考。

试剂盒组分:

试剂名称	50T	保存要求
试剂一	50mL	2-8℃
试剂二	127.95mg×2	-20℃, 避光
试剂三	100U×2	2-8℃, 避光
提取液	60mL	2-8℃

产品使用说明:

1. 样本前处理:

1.1 细菌或培养细胞: 先收集细菌或细胞到离心管内, 离心后弃上清; 按照细菌或细胞数量 (10⁴个): 提取液体积 (mL) 为500~1000: 1的比例 (建议500万细菌或细胞加入1mL提取液), 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); 8000g 4℃离心10min, 取上清, 置冰上待测。

1.2 组织: 按照组织质量 (g): 提取液体积 (mL) 为1: 5~10的比例 (建议称取约0.1g组织, 加入1mL提取液), 进行冰浴匀浆。8000g 4℃离心10min, 取上清, 置冰上待测。

1.3 血清 (浆) 样品: 直接检测。

2. 试剂准备

2.1 试剂二的配制: 临用前取试剂二1瓶, 加入22.5mL试剂一和2.65mL蒸馏水充分溶解, 置于37℃ (哺乳动物) 或25℃ (其它物种) 水浴5min; 现配现用。

2.2 试剂三的配制: 临用前取试剂三1支, 加入1.5mL蒸馏水充分溶解待用; 现配现用。

3. 测定步骤

在1mL石英比色皿中加入50μL样本、50μL试剂三和900μL试剂二, 混匀, 立即记录340nm处20s时的吸光值A1和2min20s后的吸光值A2, 计算 $\Delta A = A1 - A2$ 。



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

4. PK活性计算

4.1 血清（浆）中PK活力的计算

单位的定义：每毫升血清（浆）每分钟消耗1nmol的NADH定义为一个酶活力单位。

$$\text{PK (nmol/min/mL)} = [\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div V_{\text{样}} \div T \\ = 2613 \times \Delta A$$

4.2 组织、细菌或细胞中PK活力的计算:

4.2.1 按样本蛋白浓度计算:

单位的定义：每mg组织蛋白每分钟消耗1nmol的NADH定义为一个酶活力单位。

$$\text{PK (nmol/min/mg prot)} = [\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (V_{\text{样}} \times C_{\text{pr}}) \div T = 2613 \times \Delta A \div C_{\text{pr}}$$

4.2.2 按样本鲜重计算:

单位的定义：每g组织每分钟消耗1nmol的NADH定义为一个酶活力单位。

$$\text{PK (nmol/min/g 鲜重)} = [\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 2613 \times \Delta A \div W$$

4.2.3 按细菌或细胞密度计算:

单位的定义：每1万个细菌或细胞每分钟消耗1nmol的NADH定义为一个酶活力单位。

$$\text{PK (nmol/min/10}^4\text{cell)} = [\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (500 \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 5.226 \times \Delta A$$

V反总：反应体系总体积， 9.75×10^{-4} L； ϵ ：NADH摩尔消光系数， 6.22×10^3 L/mol/cm；d：比色皿光径，1cm；V样：加入样本体积，0.03mL；V样总：加入提取液体积，1mL；T：反应时间，2min；Cpr：样本蛋白质浓度，mg/mL；W：样本质量，g；500：细菌或细胞总数，500万。

注意事项:

1. 正式测定之前选择2-3个预期差异大的样本做预测。
2. 需自备的仪器和用品：紫外分光光度计、台式离心机、水浴锅、可调式移液器、1mL石英比色皿、研钵、冰和蒸馏水。

保存条件:

2-8°C，6个月有效。



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