

(本试剂盒仅供体外研究使用，不用于临床诊断!)

丙酮酸激酶测定试剂盒 Pyruvate Kinase Assay Kit

产品货号: BC00086

产品规格: 50T

使用前请仔细阅读说明书。如果有任何问题，请通过以下方式联系我们:

✉ 邮箱 (销售) order@enkilife.cn

✉ 邮箱 (技术支持) tech@enkilife.cn

☎ 公司电话 027-87002838

🌐 网址 www.enkilife.cn



订阅微信公众号
获取更多技术
信息及前沿动态

保质期: 请见试剂盒外包装标签。

技术支持: 为了更好地给您提供服务, 联系时请告知产品外包装标签上批号。

基本信息

产品中文名称	丙酮酸激酶测定试剂盒
产品英文名称	Pyruvate Kinase Assay Kit
检测方法	Colorimetric
样品类型	组织、血清、血浆、细胞
检测类型	Quantitative
检测仪器及波长	酶标仪 (340nm)

产品简介

丙酮酸激酶检测试剂盒，是一种可以快速便捷地检测血浆、血清，或组织等裂解液的丙酮酸激酶活性的试剂盒。

检测原理

丙酮酸激酶是糖酵解途径中的一个关键酶，能催化磷酸烯醇式丙酮酸转化为丙酮酸，并产生 ATP，所以具有重要的生理作用。在二磷酸腺苷（ADP）存在的条件下，丙酮酸激酶催化磷酸烯醇式丙酮酸（PEP）转化为丙酮酸，丙酮酸被 LDH 转化为乳酸，同时 NADH 转化为 NAD⁺，检测在 340nm 下吸光度值的变化来计算丙酮酸激酶的活性。

本试剂盒在检测组织或细胞样时，需要测定蛋白浓度，推荐使用 EnkiLife 生产的蛋白浓度测定试剂盒(BCA 法)(BC00006)。本试剂盒方便快捷，加入待测样品后可以等 20 秒进行吸光度测定，通常 10-20 个样品可以在 30 分钟内检测完毕。

产品组分

编号	产品名称	包装规格 (50T)	包装规格 (100T)	保存方式
试剂一	缓冲液	10 mL	10 mL×2 瓶	-20℃，开瓶后 4℃避光保存。
试剂二	底物 A	粉剂	粉剂×2 支	-20℃，开瓶后 4℃避光保存。
试剂三	底物 B	粉剂	粉剂×2 支	-20℃，开瓶后 4℃避光保存。
试剂四	酶溶液	1.2 mL	1.2 mL×2 支	-20℃，开瓶后 4℃避光保存。
耗材一	96 孔酶标板	1 板	1 板	RT
耗材二	96 孔覆膜	2 张	2 张	RT

保存条件

未拆封的试剂盒可在 -20℃保存 12 个月，开瓶使用后可在 4℃避光保存 6 个月。

实验前准备

• 样品处理

1. 血清血浆样本：若血清样本浑浊，可用检测缓冲液稀释后使用。
组织或细胞样本：取 0.1g 新鲜组织块，加入 1ml 生理盐水匀浆，12000 x g 离心 10min，取上清液备用。。
2. 样本的稀释：在正式检测前，需选择 2-3 个预期差异大的样本稀释成不同浓度进行预实验，根据预实验结果，结合本试剂盒的线性范围：0.08-6.79U/L。。

• 试剂盒的准备工作

1. 检测前，试剂盒中的试剂平衡至室温。
2. 试剂二工作液配制：取一支试剂二，用 1.2mL 双蒸水溶解混匀，置于冰盒上避光待用，未用完部分-20℃避光保存 3 天。
3. 试剂三工作液配制：取一支试剂三，然后用 10mL 试剂一充分溶解，未用完部分-20℃避光保存 3 天。
4. 酶工作液配制：将试剂二工作液与试剂四等体积混合，配制好的工作液置于冰盒上避光保存，按需配制，当天使用完毕。

操作流程

1. 取 10μL 待测样本加入到各酶标孔中。
2. 向步骤(1)中的各孔依次加入 150μL 试剂三工作液和 40μL 酶工作液。
3. 酶标仪 340nm 处测定 20 s 时的 OD 值 A_1 和 3 min 20 s 时的吸光值 A_2 计算 $\Delta A = A_1 - A_2$ 。

注：试剂加入酶标孔时，应触酶标板底加入；加样要慢，避免产生气泡（气泡影响测定结果）。

	标准孔
待测样本(μL)	10
试剂二(μL)	150
试剂三(μL)	40
酶标仪 340nm 处测定 20 s 时的 OD 值 A ₁ 和 3 min 20 s 时的吸光值 A ₂ 计算 ΔA = A ₁ - A ₂ 。	

注：本试剂盒检测组织或细胞样本时，需要测定总蛋白浓度，推荐使用 EnkiLife 生产的蛋白浓度测定试剂盒(BCA 法)(BC00006)。

结果计算

(1) 组织和细胞样本中的丙酮酸激酶 (PK) 活力计算公式：

定义：每克组织或细胞蛋白每分钟还原 1 mmol NADH 消耗的酶量为一个活力单位。

$$\text{PK 活性 (U/g prot)} = \left(\frac{\Delta\text{OD}_{340}}{6220 \times d} \times V_1 \right) \div (V_2 \times c_{\text{pr}}) \div T \times f \times 1000$$

(2) 血清（浆）样本中丙酮酸激酶活力计算公式：

定义：每升血清（浆）每分钟还原 1 mmol NADH 消耗的酶量为一个活力单位。

$$\text{PK 活性 (U/L)} = \left(\frac{\Delta\text{OD}_{340}}{6220 \times d} \times V_1 \right) \div V_2 \div T \times f \times 1000$$

注解：

ΔOD₃₄₀：为 A₁-A₂

6220：NADH 摩尔消光系数，L/mol⁻¹cm

d：酶标板的孔径，6×10⁻¹ cm

V₁：反应的总体积，2×10⁻¹ mL

V₂：加入的样本体积，1×10⁻² mL

C_{pr}：样本蛋白质浓度，g prot/L

T：检测反应时间，3 min

f：样本的稀释倍数

1000：1mol/L=1×10³ mmol/L

注意事项

1. 酶标仪最佳检测波长为 340 nm。
2. 本产品仅限于专业人员的科学研究用,不得用于临床诊断或治疗,不得用于食品或药品,不得存放于普通住宅内。