

Hexokinase (HK) Activity Assay Kit

己糖激酶(HK)活性检测试剂盒 微板法

产品编号	产品名称	规格
BL1818B	己糖激酶(HK)活性检测试剂盒 微板法	96T

产品简介:

α -酮戊二酸 (α -ketoglutarate, α -KG) 是三羧酸循环中的一个重要物质, 在循环中的位置为异柠檬酸之后和琥珀酰辅酶 A 之前, 连接细胞内碳-氮代谢, 不仅直接参与机体的氧化供能, 还参与体内多种物质的化学合成, 其对机体维持正常生理功能有重要作用。

本试剂盒提供一种快速、灵敏的检测 α -酮戊二酸的方法, 利用谷丙转氨酶使 α -酮戊二酸转化为谷氨酸, 通过谷氨酸脱氢酶进一步检测谷氨酸含量, 同时使生成的 NADH 进一步与显色剂反应生成黄色物质, 通过检测该有色物质在 450nm 处的生成量即可得出 α -酮戊二酸的含量。

产品组成:

试剂名称	规格	保存要求	备注
提取液	120mL×1 瓶	4°C保存	
试剂一	20mL×1 瓶	4°C保存	
试剂二	粉末×1 支	-20°C保存	临用前甩几下或离心使粉剂落入底部, 再加 1.1mL 蒸馏水溶解备用。
试剂三	粉末×1 瓶	4°C保存	临用前甩几下或离心使粉剂落入底部, 再加 18mL 试剂一溶解备用。

使用方法:

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!

一、样本准备

1. 组织样本:

(a) 称取约 0.1g 组织, 加入 1mL 提取液, 进行冰浴匀浆;

(b) 12000rpm, 4°C离心 10min, 取上清, 置冰上待测。

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

2. 细胞/细菌样本:

(a) 先收集细菌或细胞到离心管内, 离心后弃上清;

(b) 取 5×10^6 个细菌或细胞加入 1mL 提取液, 超声波破碎细菌或细胞 (冰浴, 功率 200W, 超声 3s, 间隔 10s, 重复 30 次);

(c) 12000rpm 4°C离心 10min, 取上清, 置冰上待测。

【注】: 若增加样本量, 按照每 $0.5 \sim 1 \times 10^7$ 个细菌/细胞加入 1mL 提取液进行提取。

3. 液体样本:

直接检测: 若浑浊, 离心后取上清检测。

二、样品测定

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°C预热 5min 至室温。

3. 在 96 孔板中依次加入:

试剂 (μ L)	测定管
样本	20

Note: For in vitro research use only, not for diagnostic or therapeutic use, This product is not a medical device.

注意: 在体外研究使用, 不用于诊断或治疗用途, 本产品不是医疗装置。



试剂二	10
试剂三	170
混匀，1min 时于 340nm 处读取吸光值 A1， 21min（即 20min 后）读取 A2， $\Delta A=A2-A1$ 。	

- 【注】1.若 ΔA 的值在零附近，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。

三、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 1 nmol 的 NADPH 定义为一个酶活力单位。

己糖激酶(HK) (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 1 nmol 的 NADPH 定义为一个酶活力单位。

己糖激酶(HK) (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 1 nmol 的 NADPH 定义为一个酶活力单位。

己糖激酶(HK) (nmol/min/ 10^4 cell)=[$\Delta A \div (\epsilon \times d) \times V2 \times 10^9$] $\div (500 \times V1 \div V) \div T=0.32 \times \Delta A$

4. 按液体体积计算：

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

己糖激酶(HK) (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， 6.22×10^3 L / mol / cm d---96 孔板光径，0.5cm

V---加入提取液体积，1 mL

V1---加入样本体积，0.02mL

V2---反应体系总体积， 2×10^4 L

T---反应时间，20min

500---细菌或细胞总数，500 万

W---样本质量，g

Cpr---样本蛋白质浓度，mg/mL

注意事项：

1. 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。
2. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

有效期：

-20°C保存六个月。

