

## 丙酮酸激酶 (PK) 试剂盒(测血清、血浆、组织)

比色法: 50 管/48 样

### 一、测定原理:

丙酮酸激酶 (Pyruvate kinase. PK) 在 ADP 存在下可催化 PEP 产生丙酮酸, 丙酮酸再由 LDH 将其转变为乳酸, 同时将 NADH 变为 NAD。

### 二、试剂组成与配制:

试剂一: 液体 60ml×1 瓶, 4℃ 保存。

试剂二: 粉剂×2 支, -20℃ 保存, 每支用时加双蒸水 1.4ml, 用不完放-20℃ 以下保存 7 天。

试剂三: 液体×4 支, 4℃ 保存, 不可冷冻, 用不完的仍放 4~8℃ 保存。

试剂四: 粉剂×4 支, -20℃ 保存, 用时每支加双蒸水 320μl, 用不完放-20℃ 以下保存。

试剂五: 粉剂×4 支, -20℃ 保存, 用时每支加双蒸水 650μl, 用不完放-20℃ 以下保存。

### 三、操作过程:

#### 1、样本前处理:

①、血清 (浆) 样本: 直接检测。

②、组织样本: 准确称取组织重量按重量 (g): 体积 (ml) =1: 9 的比例, 加入 9 倍体积的生理盐水, 冰水浴条件下机械匀浆, 制成 10% 匀浆, 2500 转/分, 离心 10 分钟, 取上清再用生理盐水稀释成适当浓度匀浆上清待测 (请做预试验)。(取得的上清液需测蛋白浓度, 蛋白定量试剂盒本所有售)

#### 2、操作表:

	测定管	对照管
试剂一 (ml)	1.0	1.0

试剂二 (ml)	0.05	0.05
试剂三 (ml)	0.05	0.05
试剂四 (ml)	0.025	0.025
试剂五 (ml)	0.05	0.05
混匀后, 37℃预温 10 分钟		
双蒸水 (ml)		0.02
样本 (ml)	0.02	

加样本的同时开始计时, 快速混匀后, 波长 340nm, 0.5cm 光径的石英比色皿, 双蒸水调零, 测定 30 秒时初始吸光度 A1 值, 然后将比色皿中的反应液倒入预先编号的原试管中, 放入 37℃水浴箱中准确水浴 15 分钟, 然后取出试管测定 15 分 30 秒时的吸光度 A2 值。

#### 四、酶活力的计算:

##### (一)、血清(浆)的计算:

1、单位定义: 在 37℃, pH7.6 的条件下, 每升血清(浆)每分钟将 1μmol 的 PEP 转变成丙酮酸为一个酶活力单位。

##### 2、计算公式:

$$\text{丙酮酸激酶} = \frac{A_1 - A_2}{\text{反应时间}} \div \frac{\text{比色光径} \times \text{反应液总体积} (1.195\text{ml}) \times 1000}{\text{反应液总体积} (1.195\text{ml}) \times 1000}$$

活力 (U/L) 毫摩尔消光系数 (6.22) (15 分钟) (0.5cm)

取样量 (0.02ml)

(二)、组织、细胞计算公式及举例：

1、单位定义：在 37℃，pH7.6 的条件下，每克组织蛋白每分钟将 1 $\mu$ mol 的 PEP 转变成丙酮酸为一个酶活力单位。

2、计算公式：

$$\text{丙酮酸激酶活力} = \frac{A_1 - A_2}{\text{毫摩尔消光系数 (6.22)} \times \text{反应时间 (15 分钟)} \times \text{比色光径 (0.5cm)}} \times \frac{\text{反应液总体积 (1.195)}}{\text{取样量 (0.02)}} \times \text{待测样本蛋白浓度 (gprot / ml)}$$

(U / gprot)