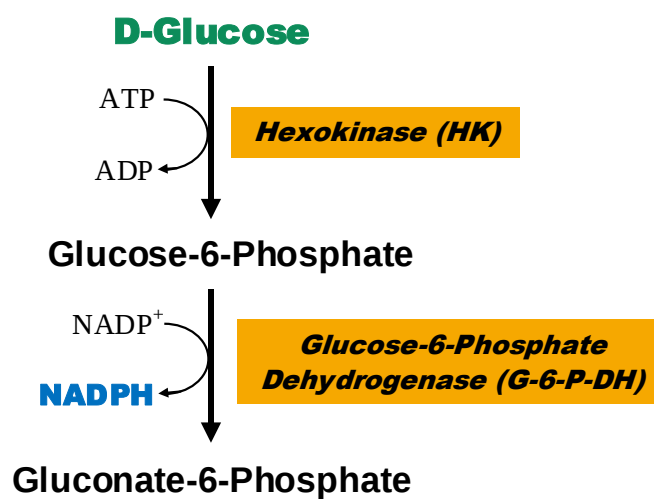




己糖激酶 (HK) 活性检测试剂盒
Hexokinase (HK) Activity Assay Kit



北京盒子生工科技有限公司
Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.



己糖激酶 (HK) 活性检测试剂盒

Hexokinase (HK) Activity Assay Kit

一、产品描述

己糖激酶 (Hexokinase) 广泛存在于动物、植物、微生物和培养细胞中, 是糖酵解途径中控制葡萄糖代谢速率的第一个关键酶, 可催化葡萄糖转化为 6-磷酸葡萄糖, 6-磷酸葡萄糖是糖酵解和磷酸戊糖途径的交叉点, 在机体代谢过程中发挥着重要作用。

己糖激酶可催化葡萄糖和 ATP 生成葡萄糖-6-磷酸 (G-6-P) 和 ADP, 葡萄糖-6-磷酸脱氢酶 (G-6-PD) 可催化葡萄糖-6-磷酸脱氢生成 6-磷酸葡萄糖酸 (6-PGA), 同时使 NADP^+ 还原成 NADPH, NADPH 在 340 nm 处具有特征吸收峰, 通过吸光值变化即可表征己糖激酶的活性。

二、产品内容

名称	试剂规格	储存条件	使用方法及注意事项
提取液	液体 60 mL×1 瓶	4°C保存	-
试剂一	液体 70 mL×1 瓶	4°C保存	
试剂二	粉剂×1 瓶	-20°C避光保存	使用前加入 60 mL 试剂一充分溶解 (可分装后-20°C保存, 避免反复冻融)
试剂三	粉剂×1 支	-20°C避光保存	使用前加入 1 mL 试剂一充分溶解 (可分装后-20°C保存, 避免反复冻融)
试剂四	液体 10 mL×1 瓶	4°C保存	-
HK 工作液的制备 (现用现配): 根据使用量按试剂三: 试剂四= 1:9 的体积比配置。			

三、产品使用说明

测定过程中所需要的仪器和试剂: 紫外分光光度计、1 mL 石英比色皿 (光径=1 cm)、研钵/匀浆器、可调式移液器、台式离心机、恒温水浴/培养箱和蒸馏水。

1. 粗酶液的制备 (可根据预实验结果适当调整样本量和比例)

①细菌或细胞: 离心收集细菌或细胞至离心管内, 按照细菌或细胞数量(10^4 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 1 mL 提取液) 处理样品, 冰浴超声破碎 (功率 20%或 200 W, 超声 3 s, 间隔 10 s, 重复 30 次), 4°C 8000 g 离心 10 min, 取上清置于冰上待测。

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 0.1 g 组织，加入 1 mL 提取液）处理样品，冰浴匀浆，4℃ 8000 g 离心 10 min，取上清置于冰上待测。

③血清（浆）、培养液等液体样本：直接检测或适当稀释后再进行检测。

2.测定步骤

①紫外分光光度计预热 30 min 以上，调节波长至 340 nm，蒸馏水调零。

②试验前将试剂二恢复至室温后置于 37℃（哺乳动物）或 25℃（其他物种）预热 10 min。

③在 1 mL 石英比色皿中依次加入下列试剂：

试剂	测定管 (μL)
试剂二	1000
HK 工作液	10
粗酶液	30

吸光值测定：①立即充分混匀并开始计时，测定 20 s（总时间）时 340 nm 处吸光值，记为 A1；
②37℃（哺乳动物）或 25℃（其它物种）准确反应 300 s，测定 320 s（总时间）时 340 nm 处吸光值，记为 A2；③计算 $\Delta A = A2 - A1$ 。

3.己糖激酶（HK）活性计算

①按细菌或细胞数量计算

单位定义：每 10^4 个细菌或细胞每分钟生成 1 nmol NADPH 定义为一个酶活力单位。

$$\text{HK (U/10}^4\text{cell)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{样总}} \times 10^9}{\epsilon \times d \times \text{细菌或细胞数量} \times V_{\text{样}} \times T} = \frac{1114.68 \times \Delta A}{\text{细菌或细胞数量}}$$

②按组织蛋白浓度计算

单位定义：每 mg 组织蛋白每分钟生成 1 nmol NADPH 定义为一个酶活力单位。

$$\text{HK (U/mg prot)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times 10^9}{\epsilon \times d \times \text{Cpr} \times V_{\text{样}} \times T} = \frac{1114.68 \times \Delta A}{\text{Cpr}}$$

③按组织样本质量计算

单位定义：每 g 组织每分钟生成 1 nmol NADPH 定义为一个酶活力单位。

$$\text{HK (U/g)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{样总}} \times 10^9}{\epsilon \times d \times W \times V_{\text{样}} \times T} = \frac{1114.68 \times \Delta A}{W}$$

④按液体体积计算

单位定义：每 mL 液体样本每分钟生成 1 nmol NADPH 定义为一个酶活力单位。

$$HK (U/mL) = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times 10^9}{\epsilon \times d \times V_{\text{样}} \times T} = 1114.68 \times \Delta A$$

注释： V 样：反应体系中加入粗酶液的体积，0.03 mL；V 样总：粗酶液总体积，1 mL；V 反总：反应体系总体积，1.04×10⁻³ L；ε：NADPH 摩尔消光系数，6.22×10³ L/mol/cm；d：比色皿光径，1 cm；细菌或细胞数量：以万计；Cpr：样本蛋白浓度，mg/mL；W：样本质量，g；T：反应时间，5 min。

四、注意事项

- ①测定过程中粗酶液和 HK 工作液需置于冰上保存以免失活；
- ②准确在相应时间点完成测定，以确保实验结果的准确性和重复性；
- ③若 ΔA>0.5 建议将粗酶液使用提取液适当稀释或缩短反应时间至 2 min 后再进行测定，使 ΔA<0.5 以提高检测灵敏度，计算时相应修改；
- ④为保证结果准确且避免试剂损失，测定前请仔细阅读说明书（以实际收到说明书内容为准），确认试剂储存和准备是否充分，操作步骤是否清楚，且务必取 2-3 个预期差异较大的样本进行预测定，过程中问题请您及时与工作人员联系。

For Research Use Only. Not for Use in Diagnostic Procedures.

boxbio

Manufactured and Distributed by

Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.

Liaodong U Valley, Tongzhou District, Beijing, China

TEL: 400-805-8228

E-MAIL: techsupport@boxbio.cn

Copyright © 2020 Boxbio, All Rights Reserved.

