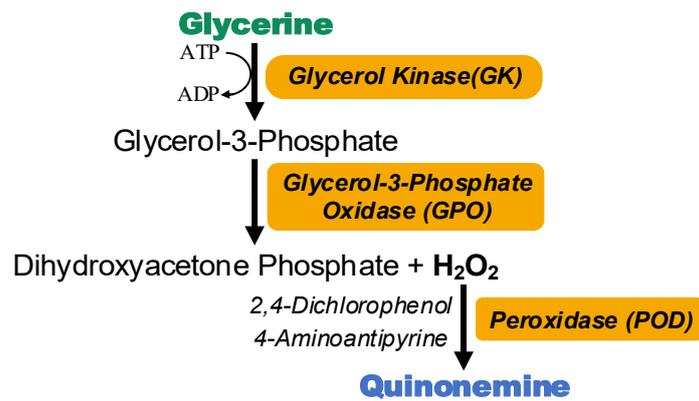




甘油激酶 (GK) 活性检测试剂盒
Glycerol Kinase (GK) Activity Assay Kit



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



甘油激酶 (GK) 活性检测试剂盒

Glycerol Kinase (GK) Activity Assay Kit

一、产品描述

甘油激酶 (Glycerol Kinase, GK) 是糖代谢途径中的关键酶, 可催化甘油发生磷酸化生成甘油-3-磷酸, 是甘油进入糖代谢或脂质合成途径的首个步骤。通过测定甘油激酶的活性, 能够直接反映机体糖代谢与功能状态, 对相关代谢性疾病的辅助诊断、病情监测及治疗策略制定具有重要参考价值。

甘油在甘油激酶的催化作用下生成甘油磷酸, 甘油磷酸氧化酶 (GPO) 将甘油磷酸氧化产生过氧化氢, 过氧化物酶 (Peroxidase, POD) 催化 H_2O_2 氧化 4-氨基安替比林偶联酚, 生成红色醌类化合物, 产物在 505 nm 处具有特征吸收峰, 通过吸光值变化即可表征甘油激酶的活性。

二、产品内容

名称	试剂规格	储存条件	使用说明及注意事项
提取液	液体 60 mL×1 瓶	4°C保存	-
试剂一	液体 50 mL×1 瓶	4°C保存	-
试剂二	粉剂×1 支	-20°C保存	使用前加入 800 μ L 蒸馏水充分溶解 (分装后-20°C可保存 1 个月, 避免反复冻融)
试剂三	粉剂×1 瓶	-20°C保存	使用前加入 4 mL 蒸馏水充分溶解 (分装后-20°C可保存 1 个月, 避免反复冻融)
试剂四	液体 400 μ L×1 支	4°C保存	-
试剂五	液体 5 mL×1 瓶	4°C保存	-
试剂六	液体 3 mL×1 瓶	4°C保存	-
标准液	液体 1 mL×1 支	4°C保存	1000 μ mol/mL 过氧化氢标准液
标准应用液的制备 (现用现配): 使用前将 1000 μ mol/mL 过氧化氢标准液使用蒸馏水稀释至 0.25 μ mol/mL 即为标准应用液。			

三、产品使用说明

测定过程中所需要的仪器和试剂: 可见分光光度计、1 mL 玻璃比色皿 (光径 10 mm、狭缝 3 mm、体积 1.05 mL)、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及比例）

①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°C 15000 g 离心 10 min，取上清液置于冰上待测。

②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 200 W，超声 3 s，间隔 7 s，总时间 3 min），4°C 15000 g 离心 10 min，取上清液置于冰上待测。

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分光光度计预热 30 min 以上，调节波长至 505 nm，蒸馏水调零。

②试剂二应用液的制备（现配现用）：使用前根据使用量按试剂一：试剂二=60:1 的体积比配制。

③检测工作液的制备（现配现用）：使用前根据使用量按试剂三：试剂四：试剂五：试剂六：蒸馏水=8:1:10:6:15 的体积比配制。

④试验前试剂二应用液置于 25°C 预热 10 min 以上。

⑤在离心管中依次加入下列试剂：

试剂	测定管 (μL)	标准管 (μL)	空白管 (μL)
粗酶液	150	-	-
标准应用液	-	150	-
蒸馏水	-	-	150
试剂二应用液	600	600	600
充分混匀，37°C 准确反应 20 min			
检测工作液	250	250	250
充分混匀，37°C 准确反应 15 min			

吸光值测定（10 min 内完成测定）：将反应液置于 1 mL 玻璃比色皿中，测定 505 nm 处吸光值，记为 A 测定、A 标准和 A 空白；计算 $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}$ ， $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}$ 。注：标准管和空白管只需测定 1-2 次。

3.甘油激酶（GK）活性

①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 $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ 定义为一个酶活性单位。

$$\text{GK (U/mg prot)} = \frac{C_{\text{标}} \times \Delta A_{\text{测定}} \times D}{\Delta A_{\text{标准}} \times C_{\text{pr}} \times T} = \frac{0.0167 \times \Delta A_{\text{测定}} \times D}{\Delta A_{\text{标准}} \times C_{\text{pr}}}$$

②按组织样本质量计算

单位定义：每 g 组织每分钟生成 1 $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ 定义为一个酶活性单位。

$$\text{GK (U/g)} = \frac{C_{\text{标}} \times \Delta A_{\text{测定}} \times V_{\text{提}} \times D}{\Delta A_{\text{标准}} \times W \times T} = \frac{0.0167 \times \Delta A_{\text{测定}} \times D}{\Delta A_{\text{标准}} \times W}$$

③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 $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ 定义为一个酶活性单位。

$$\text{GK (U}/10^4 \text{ cell)} = \frac{C_{\text{标}} \times \Delta A_{\text{测定}} \times V_{\text{提}} \times D}{\Delta A_{\text{标准}} \times \text{细菌或细胞} \times T} = \frac{0.0167 \times \Delta A_{\text{测定}} \times D}{\Delta A_{\text{标准}} \times \text{细菌或细胞}}$$

④液体样本体积计算

单位定义：每 mL 液体样本每分钟生成 1 $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ 定义为一个酶活性单位。

$$\text{GK (U/mL)} = \frac{C_{\text{标}} \times \Delta A_{\text{测定}} \times D}{\Delta A_{\text{标准}} \times T} = \frac{0.0167 \times \Delta A_{\text{测定}} \times D}{\Delta A_{\text{标准}}}$$

注释： C 标：标准应用液浓度，0.25 $\mu\text{mol/mL}$ ；V 提：提取过程中加入提取液体积，1 mL；Cpr：粗酶液蛋白浓度，mg/mL；W：样本质量，g；细菌或细胞数量：以万计，若 500 万细菌或细胞则代入 500 即可；T：酶促反应时间，15 min；D：待测样本稀释倍数，若未稀释则为 1。

四、注意事项

①反应完成后应控制在 10 min 内完成吸光值检测，以确保检测结果的准确性和重复性；若检测样本较多建议分批进行检测；

②粗酶液应置于冰上待测，建议提取完成后当天完成活性检测；

③若 ΔA 测定大于 1.5，建议将粗酶液使用蒸馏水适当稀释后再进行检测；若 ΔA 测定小于 0.02，建议适当延长酶促反应时间（37°C 准确反应 20 min，可以延长至 30 min 以上）或制备更高浓度的样本后再进行检测，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.

