

## 己糖激酶(HK)试剂盒

紫外法 48 样

### 一、测定原理：

HK 催化葡萄糖合成 6-磷酸葡萄糖，6-磷酸葡萄糖脱氢酶进一步催化 6-磷酸葡萄糖脱氢生成 NADPH,NADPH 在 340nm 有特征吸收峰。

### 二、自备的仪器和用品：

紫外分光光度计、恒温水浴锅、台式离心机、可调式移液器、1ml 石英比色皿、研钵、冰、蒸馏水。

### 三、试剂的组成和配制：

提取液：60ml×1 瓶，4℃保存；

试剂一：液体 30ml×1 瓶，4℃保存；

试剂二：粉剂×1 瓶，4℃保存；临用前加入 30ml 蒸馏水充分溶解备用；用不完的试剂分装后-20℃保存，禁止反复冻融；

试剂三：液体 5ml×1 瓶，4 度保存；

试剂四：粉剂×1 支，-20℃保存，临用前加入 4ml 蒸馏水充分溶解备用；用不完的试剂分装后-20℃保存，禁止反复冻融；

试剂五：粉剂×1 支，-20℃保存，临用前加入 2ml 蒸馏水充分溶解备用；用不完的试剂分装后-20℃保存，禁止反复冻融；

试剂六：粉剂×1 支，-20℃保存，临用前加入 250 μl 试剂一和 250 μl 蒸馏水充分溶解备用；用不完的试剂分装后-20℃保存，禁止反复冻融。

### 四、样本前处理：

样本处理详见说明书。测定组织和细胞同时需要测定蛋白浓度。可用总蛋白定量测试盒（考马斯亮蓝法）或者总蛋白定量测试盒(BCA 法)进行蛋白浓度的测定。

### 五、测定步骤：正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预实验

试剂名称 (ul)	测定管
试剂一	400
试剂二	400
试剂三	80
试剂四	80
试剂五	40
试剂六	8

样本	30
将上述试剂按顺序加入 1ml 石英比色皿中，立即混匀，加样本的同时开始计时，在 340nm 波长下记录 20 秒时的初始吸光度 A1 和 5 分 20 秒时的吸光度 A2，计算 $A=A_2-A_1$ 。	