

肌酸激酶活性检测试剂盒（紫外分光光度法）

产品货号：BA1172

产品规格：50管/48样

产品简介：

肌酸激酶（Creatine Kinase, CK）(EC 2.7.3.2)也成为肌酸磷酸激酶，主要存在于心脏、肌肉以及脑等组织中，能可逆地催化肌酸与ATP之间的转磷酸基反应，是一个与细胞能量运转、肌肉收缩、ATP再生有直接关系的重要激酶。

CK催化磷酸肌酸和ADP生成肌酸和ATP，己糖激酶催化ATP与葡萄糖形成6-磷酸葡萄糖，6-磷酸葡萄糖脱氢酶催化6-磷酸葡萄糖与NADP+生成NADPH，导致340nm光吸收值增加，以此来表示CK酶活。

注意：实验之前建议选择2-3个预期差异大的样本做预实验。如果样本吸光值不在测量范围内建议稀释或者增加样本量进行检测。

产品内容：

试剂名称	规格	保存条件
提取液	液体60mL×1瓶	2-8℃
试剂一	粉剂×1瓶	-20℃
试剂二	粉剂×1支	-20℃
试剂三	粉剂×2支	-20℃
试剂四	粉剂×2支	-20℃
试剂五	液体15mL×1瓶	2-8℃

溶液的配制：

1. 试剂一：临用前加10mL蒸馏水溶解；用不完的分装后-20℃保存，禁止反复冻融；
2. 试剂二：临用前加入0.5mL蒸馏水溶解；用不完的分装后-20℃保存，禁止反复冻融；
3. 试剂三：临用前取1支加入0.5mL蒸馏水溶解；用不完的分装后-20℃保存，禁止反复冻融；
4. 试剂四：临用前加入0.65mL蒸馏水溶解；用不完的分装后-20℃保存，禁止反复冻融；
5. 工作液：临用前根据用量将试剂一、试剂二、试剂三、试剂四、试剂五以70:4:7:10:90的比例混合（体积比）。现用现配。使用前室温孵育20min（该步骤不可省略）。

需自备的仪器和用品：

天平、低温离心机、恒温水浴锅、紫外分光光度计、1mL石英比色皿、恒温水浴锅、研钵/匀浆器、蒸馏水。

操作步骤：

一、样本处理（可适当调整待测样本量，具体比例可以参考文献）

1. 组织样本：按照组织质量（g）：提取液体积（mL）为1：5~10的比例（建议称取约0.1g组织，加入1mL提取液）进行冰浴匀浆，然后10000g，4℃离心15min，取上清，置冰上待测。
2. 血清样本：直接测定。
3. 细胞样本：按照细胞数量（10⁴个）：提取液体积（mL）为500~1000：1的比例（建议500万细胞加入1mL提取液）加入提取液，冰浴超声波破碎细胞（功率300w，超声3秒，间隔7秒，总时间3min）；然后于4℃，10000g离心10min，取上清待测。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q：807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com

二、测定步骤

1. 分光光度计预热30min以上，调节波长至340nm，用蒸馏水调零。
2. 操作表：在1mL比色皿中加入下列试剂

	空白管	测定管
样本 (μL)	-	200
工作液 (μL)	450	450
H ₂ O (μL)	550	350

在1mL石英比色皿中分别加入上述试剂，充分混匀后于340nm处测定10s时的吸光值A1，迅速置于37℃水浴3min，拿出迅速擦干测定190s时的吸光值A2，计算 $\Delta A_{测定管} = A2_{测定} - A1_{测定}$ ， $\Delta A_{空白管} = A2_{空白} - A1_{空白}$ ， $\Delta A = \Delta A_{测定管} - \Delta A_{空白管}$ 。（空白管只需做1-2次）

三、CK活性计算

- (1) 按组织蛋白浓度计算：

酶活定义：37℃，pH7.0时，每毫克蛋白质每分钟催化产生1nmol NADPH为一个酶活单位。

$$CK活性 (U/mg prot) = \Delta A \div (\epsilon \times d) \times V_{反总} \times 10^9 \div (V_{样} \times C_{pr}) \div T = 268 \times \Delta A \div C_{pr}$$

- (2) 按组织样本质量计算：

酶活定义：37℃，pH7.0时，每克样本每分钟催化产生1nmol NADPH为一个酶活单位。

$$CK活性 (U/g 质量) = \Delta A \div (\epsilon \times d) \times V_{反总} \times 10^9 \div (V_{样} \div V_{样总} \times W) \div T = 268 \times \Delta A \div W$$

- (3) 按血清体积计算：

酶活定义：37℃，pH7.0时，每mL血清每分钟催化产生1nmol NADPH为一个酶活单位。

$$CK活性 (U/mL) = \Delta A \div (\epsilon \times d) \times V_{反总} \times 10^9 \div V_{样} \div T = 268 \times \Delta A$$

- (4) 按细胞数量计算：

酶活定义：37℃，pH7.0时，每1万个细胞每分钟催化产生1nmol NADPH为一个酶活单位。

$$CK活性 (U/10^4 cell) = \Delta A \div (\epsilon \times d) \times V_{反总} \times 10^9 \div (V_{样} \div V_{样总} \times \text{细胞数量}) \div T = 268 \times \Delta A \div \text{细胞数量}$$

ϵ : NADPH的摩尔消光系数， $6.22 \times 10^3 \text{ L/mol/cm}$ ； d : 比色皿光径，1cm； $V_{反总}$: 反应体系总体积，0.001L； $V_{样}$: 反应体系中样本体积，0.2mL； $V_{样总}$: 提取液体积，1mL； C_{pr} : 样本蛋白浓度，mg/mL； W : 样本质量，g；细胞数量：以 10^4 为单位计算，万个； T : 反应时间，3min； 10^9 : 单位换算系数， $1 \text{ mol} = 10^9 \text{ nmol}$ 。

注意事项：

1. 血清的CK不稳定，采集样本后尽快测定，4℃避光保存可稳定24h。
2. 样本蛋白质含量需要另外测定。
3. OD值大于0.6可用提取液适当稀释样本，并在计算公式中相应的改变稀释倍数。
4. ΔA 空白管一般不超过0.01。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址: 郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话: 400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱: zzlybio@126.com