

## 肌酸激酶活性检测试剂盒（微量法）

产品货号：BA1173

产品规格：100管/96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110mL×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×1支	-20℃
试剂四	粉剂×1支	-20℃
试剂五	液体5mL×1瓶	2-8℃

### 溶液的配制：

1. 试剂一：临用前加5mL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/酶标仪、微量石英比色皿/96孔UV板、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（10<sup>4</sup>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



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

离心10min，取上清待测。

## 二、测定步骤

1. 分光光度计/酶标仪预热30min以上，调节波长至340nm，用蒸馏水调零。
2. 操作表：在微量石英比色皿/96孔板中加入下列试剂

	空白管	测定管
样本 (μL)	-	40
工作液 (μL)	90	90
H <sub>2</sub> O (μL)	110	70

在微量石英比色皿/96孔UV板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℃水浴或者培养箱3min（有控温功能的酶标仪可以设置唯独为37℃），拿出迅速擦干测定190s时的吸光值A2，计算ΔA  
测定管= A2测定-A1测定，ΔA空白管=A2空白-A1空白，ΔA=ΔA测定管-ΔA空白管。（空白管只需做1-2次）

## 三、CK活性计算

1. 按微量石英比色皿计算

### (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。

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

### (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。

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

### (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。

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

### (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。

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

ε：NADPH的摩尔消光系数，6.22×10<sup>3</sup>L/mol/cm；d：比色皿光径，1cm；V反总：反应体系总体积，2×10<sup>4</sup>L；

V样：反应体系中样本体积，0.04mL；V样总：提取液体积，1mL；Cpr：样本蛋白浓度，mg/mL；W：样本质量，g；细胞数量：以10<sup>4</sup>为单位计算，万个；T：反应时间，3min；10<sup>9</sup>：单位换算系数，1mol=10<sup>9</sup>nmol。

### 2. 按96孔UV板计算

将上述公式中的d=1cm改为0.6cm（96孔板光径）进行计算即可。

## 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

QQ：807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com