

## 肌酸含量检测试剂盒（微量法）

产品货号：BA1875

产品规格：100管/48样

### 产品简介：

肌酸(Creatine)是一种含氮化合物，自然存在于脊椎动物体内，能够辅助为肌肉和神经细胞提供能量。肌酸可由精氨酸(arginine)、甘氨酸(glycine)及甲硫氨酸(methionine)三种氨基酸合成，可由人体自行合成，也可以从食物中摄取。大约95%的肌酸存在于骨骼肌中，主要存在形式为磷酸肌酸。肌酸作为一种补充剂主要通过增加肌肉质量，增强运动表现能力。肌酸也被作为神经肌肉疾病的一种治疗药被广泛研究，它可能有助于保护神经和改善细胞生物功能状态。

肌酸可在碱性条件下与联乙酰- $\alpha$ -萘酚发生反应，生成红色产物在530nm处有吸收峰。

**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。**

### 产品组成：

| 试剂名称 | 规格        | 保存条件 |
|------|-----------|------|
| 提取液一 | 液体60mL×1瓶 | 2-8℃ |
| 提取液二 | 液体10mL×1瓶 | 2-8℃ |
| 试剂一  | 液体5mL×1瓶  | 2-8℃ |
| 试剂二  | 液体2mL×1瓶  | 2-8℃ |
| 标准品  | 粉剂×1支     | 2-8℃ |

### 溶液的配制：

1. 标准品：1mg一水肌酸。临用前加入1mL蒸馏水，充分溶解，即1mg/mL一水肌酸标准储备液。用不完的试剂4℃保存一个月。

### 需自备的仪器和用品：

可见分光光度计/酶标仪、低温离心机、可调式移液器、微量玻璃比色皿/96孔板、研钵/匀浆器、冰和蒸馏水。

### 操作步骤：

#### 一、样本处理（可适当调整待测样本量，具体比例可参考文献）

1. 细菌、细胞样本的制备：按照细胞数量（ $10^4$ 个）：提取液一（mL）为500~1000：1的比例（建议500万细胞加入1mL提取液一）加入提取液一，冰浴超声波破碎细胞（功率300W，超声3秒，间隔9秒，总时间5min）；于4℃，12000g离心10min，取0.8mL上清液，再加入0.15mL提取液二，4℃，12000g离心10min后取上清待测。
2. 组织样本的制备：按照质量（g）：提取液一（mL）为1：5~10的比例（建议称取约0.1g组织，加入1mL提取液一）加入提取液一，冰浴匀浆后于4℃，12000g离心10min，取0.8mL上清液，再加入0.15mL提取液二，4℃，12000g离心10min后取上清待测。
3. 血清（浆）：取100 $\mu$ L血清（浆）加入1mL提取液一，4℃，12000g离心10min，取0.8mL上清液，再加入0.15mL提取液二，4℃，12000g离心10min后取上清待测。

#### 二、测定步骤

1. 分光光度计/酶标仪预热30min以上，调节波长至530nm，蒸馏水调零。
2. 标准溶液配制：将1mg/mL一水肌酸标准储备液，用蒸馏水稀释至200、160、130、100、50、25、12.5 $\mu$ g/mL



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

标准溶液待用。

3. 按下表步骤加样：

| 试剂名称 (μL)  | 测定管 | 对照管 | 空白管 | 标准管 |
|--|-----|-----|-----|-----|
| 样本   | 20  | 20  | -   | -   |
| 蒸馏水  | -   | 20  | 20  | -   |
| 标准溶液   | -   | -   | -   | 20  |
| 试剂一  | 40  | 40  | 40  | 40  |
| 试剂二  | 20  | -   | 20  | 20  |
| 室温避光反应10min  |     |     |     |     |
| 蒸馏水  | 120 | 120 | 120 | 120 |
| 充分混匀，于530nm处测定吸光度。分别记为A测定、A对照、A空白、A标准。ΔA测定=A测定-A对照，ΔA标准=A标准-A空白。 |     |     |     |     |

注：空白管只需做 1-2 次。

### 三、肌酸含量计算

1. 标准曲线绘制：以肌酸标准溶液浓度为横坐标 (x, μg/mL)，以 ΔA 标准为纵坐标 (y) 绘制标准曲线，得到线性回归方程  $y=kx+b$ ，将 ΔA 测定带入方程求得 x (μg/mL)。

2. 计算公式

(1) 按照蛋白浓度计算

$$\text{肌酸含量} (\mu\text{g}/\text{mg prot}) = x \times V_{\text{样}} \div (V_{\text{样}} \times C_{\text{pr}}) \times 0.879 = x \div C_{\text{pr}} \times 0.879$$

(2) 按照样本质量计算

$$\text{肌酸含量} (\mu\text{g}/\text{g 质量}) = x \times (V_{\text{上清}} + V_{\text{提取液二}}) \div (W \times V_{\text{上清}} \div V_{\text{提取液一}}) \times 0.879 = 1.044 \times x \div W$$

(3) 按照细菌或细胞数量计算

$$\text{肌酸含量} (\mu\text{g}/10^4 \text{ cell}) = x \times (V_{\text{上清}} + V_{\text{提取液二}}) \div (\text{细胞数量} \times V_{\text{上清}} \div V_{\text{提取液一}}) \times 0.879 = 1.044 \times x \div \text{细胞数量}$$

(4) 按照血清(浆)体积计算

$$\text{肌酸含量} (\mu\text{g}/\text{mL}) = x \times (V_{\text{上清}} + V_{\text{提取液二}}) \div [V_{\text{液体}} \times V_{\text{上清}} \div (V_{\text{提取液一}} + V_{\text{液体}})] \times 0.879 = 11.482 \times x$$

V 样：加入样本体积，20 μL=0.02mL；V 上清：提取液一提取时上清液体积，0.8mL；Cpr：样本蛋白浓度 mg/mL；W：样本质量，g；细胞或细菌数量，以 10<sup>4</sup> 计；V 提取液一：加入提取液一体积，1mL；V 提取液二：加入提取液二体积，0.15mL；V 液体：液体样本体积，0.1mL；0.879：换算系数，一水肌酸相对分子质量 149.15，无水肌酸相对分子质量 131.13，0.879=131.13÷149.15。

### 注意事项：

1. 显色完成后，请在 10min 之内完成检测。
2. 提取液中含有蛋白沉淀剂，提取的上清液不能用于蛋白浓度的测定。若想要用蛋白浓度计算肌酸含量需要另取样本，即取相同质量的组织、同等数目的细菌或细胞，用 1.1875mLPBS (生理盐水) 匀浆；取相同体积的血清(浆)，用 1.206mLPBS (生理盐水) 匀浆 (相当于提取步骤最终样本上清液)，用 BCA 法进行蛋白浓度测定。
3. 如果测定吸光值低于或超过标准溶液线性范围的吸光值，可以增加样本量或者稀释样本后再进行检测。
4. 试剂一、试剂二对人体有刺激性，请采取适当的防护措施。为了您的安全和健康，请穿实验服并戴乳胶手套操作。



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

### 实验实例：

1. 取 0.1g 兔肾脏加入 1mL 提取液一进行匀浆研磨离心，取 0.8mL 上清后加 0.15mL 提取液二，离心取上清后按照测定步骤操作，用 96 孔板测定后计算  $\Delta A$  测定=A 测定-A 对照=0.128-0.064=0.064，带入标准曲线  $y=0.0062x-0.0143$ ，计算  $x=12.629$ 。按样本质量计算含量得：  
肌酸含量（ $\mu\text{g/g}$  质量）= $1.044 \times x \div W=131.85 \mu\text{g/g}$  质量。
2. 取 100  $\mu\text{L}$  牛血清加入 1mL 提取液一，离心取 0.8mL 上清后加 0.15mL 提取液二，离心取上清，之后按照测定步骤操作，用 96 孔板测定后计算  $\Delta A$  测定=A 测定-A 对照=0.271-0.07=0.201，带入标准曲线  $y=0.0062x-0.0143$ ，计算  $x=34.726$ 。按照液体体积计算含量得：  
肌酸含量（ $\mu\text{g/mL}$ ）= $11.482 \times x=398.7 \mu\text{g/mL}$ 。



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