

肌酸含量检测试剂盒（可见分光光度法）

产品货号：BA1874

产品规格：50管/24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- α -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30mL×1瓶	2-8℃
提取液二	液体5mL×1瓶	2-8℃
试剂一	液体15mL×1瓶	2-8℃
试剂二	液体5mL×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、低温离心机、可调式移液器、1mL玻璃比色皿、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）：提取液一体积（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 μ 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100、80、50、25、12.5、6.25 μ g/mL标准溶液待用。



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

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	100	100	-	-
蒸馏水	-	100	100	-
标准溶液	-	-	-	100
试剂一	200	200	200	200
试剂二	100	-	100	100
室温避光反应10min				
蒸馏水	600	600	600	600
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: 以一水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, 100 μL=0.1mL; 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 10⁴ 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:

- 显色完成后, 请在 10min 之内完成检测。
- 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。
- 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测定。
- 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 小鼠肌肉加入 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，离心取上清稀释 2 倍后按照测定步骤操作，测得计算 ΔA 测定=A 测定-A 对照=1.335-0.058=1.277，带入标准曲线 $y=0.0118x+0.0343$ ，计算 $x=105.3$ 。按样本质量计算含量得：
肌酸含量 ($\mu\text{g/g}$ 质量) = $1.044 \times x \div W \times 2$ (稀释倍数) = $2198.7 \mu\text{g/g}$ 质量。
2. 取 100 μL 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，测得计算 ΔA 测定=A 测定-A 对照=0.596-0.069=0.527，带入标准曲线 $y=0.0118x+0.0343$ ，计算 $x=41.754$ 。按照液体体积计算含量得：
肌酸含量 ($\mu\text{g/mL}$) = $11.482 \times x = 479.4 \mu\text{g/mL}$ 。



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