

肌酸含量检测试剂盒（酶法）（微量法）

产品货号：BA1914

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。

肌酸酶偶联肌氨酸氧化酶，可将肌酸转化为甘氨酸、甲醛、过氧化氢，过氧化物酶催化过氧化氢氧化4-氨基安替比林偶联酚，生成有色化合物，在505nm有特征吸收峰。

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	粉剂×2支	-20℃
试剂二	粉剂×2支	-20℃
试剂三	粉剂×2支	-20℃
试剂四A液	液体10mL×1瓶	2-8℃
试剂四B液	液体10mL×1瓶	2-8℃
标准品	粉剂×1支	2-8℃

溶液的配制：

1. 试剂一：临用前每支加入550μL蒸馏水，充分溶解。用不完的试剂分装后-20℃保存。
2. 试剂二：临用前每支加入0.15mL蒸馏水，充分溶解。用不完的试剂分装后-20℃保存。
3. 试剂三：临用前每支加入0.5mL蒸馏水（100T/48S），充分溶解。为方便储存故多给一支。用不完的试剂分装后-20℃保存。
4. 试剂四：临用前根据试验所需用量，按照试剂四A液：试剂四B液=1:1，充分混匀，现用现配。
5. 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。临用前取20μL和80μL蒸馏水混合配制成200μg/mL作为标准溶液待测。现用现配。

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、超声破碎仪。

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. 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），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。



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. 血清（浆）：取100 μ L血清（浆）加入1mL提取液一，4 $^{\circ}$ C 12000g离心10min，取0.8mL上清液，再加入0.15mL提取液二，4 $^{\circ}$ C，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505nm，分光光度计蒸馏水调零。
2. 按下表步骤加样

试剂名称 (μ L)	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	20	-	20	20
充分混匀，37 $^{\circ}$ C（哺乳动物）或25 $^{\circ}$ C（其他物种）条件下，反应10min。				
试剂二	2	2	2	2
试剂三	2	2	2	2
试剂四	160	160	160	160
充分混匀，37 $^{\circ}$ C（哺乳动物）或25 $^{\circ}$ C（其他物种）条件下，显色30min。测定505nm处的吸光度。分别记为A测定、A对照、A空白、A标准。 Δ A测定=A测定-A对照， Δ A标准=A标准-A空白。				

注：空白管只需做1-2次。

二、肌酸含量计算

1. 计算公式

(1) 按照蛋白浓度计算

$$\text{肌酸含量} (\mu\text{g}/\text{mg prot}) = \text{C标} \times \text{V样} \div \Delta\text{A测} \div \Delta\text{A标} \div (\text{V样} \times \text{Cpr}) \times 0.879 = 175.8 \times \Delta\text{A测} \div \Delta\text{A标} \div \text{Cpr} \times 0.879$$

(2) 按照样本质量计算

$$\begin{aligned} \text{肌酸含量} (\mu\text{g}/\text{g 质量}) &= \text{C标} \times \Delta\text{A测} \div \Delta\text{A标} \times (\text{V上清} + \text{V提取液二}) \div (\text{W} \times \text{V上清} \div \text{V提取液一}) \times 0.879 \\ &= 208.76 \times \Delta\text{A测} \div \Delta\text{A标} \div \text{W} \end{aligned}$$

(3) 按照细菌或细胞数量计算

$$\begin{aligned} \text{肌酸含量} (\mu\text{g}/10^4 \text{ cells}) &= \text{C标} \times \Delta\text{A测} \div \Delta\text{A标} \times (\text{V上清} + \text{V提取液二}) \div (\text{细胞数量} \times \text{V上清} \div \text{V提取液一}) \times 0.879 \\ &= 208.76 \times \Delta\text{A测} \div \Delta\text{A标} \div \text{细胞数量} \end{aligned}$$

(4) 按照血清（浆）体积计算

$$\begin{aligned} \text{肌酸含量} (\mu\text{g}/\text{mL}) &= \text{C标} \times \Delta\text{A测} \div \Delta\text{A标} \times (\text{V上清} + \text{V提取液二}) \div [\text{V液体} \times \text{V上清} \div (\text{V提取液一} + \text{V液体})] \times 0.879 \\ &= 2296.39 \times \Delta\text{A测} \div \Delta\text{A标} \end{aligned}$$

C标：标准管浓度，200 μ g/mL；V样：加入样本体积，20 μ L=0.02mL；V上清：提取时上清液体积，0.8mL；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；W：样本质量，g；Cpr：样本蛋白浓度，mg/mL；细胞数量：以万计；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 \div 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酐含量需要另取组织或血清（浆），即取相同质量（体积）的组织（血清（浆））用1.1875mLPBS（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. 如果测定吸光值超过标准管吸光值，建议用蒸馏水稀释样本后再进行测定。如果测定吸光值过小，建议增大样本量后再进行测定。



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