

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（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



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司
Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话：400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱：saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com

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。

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 ₂ 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。

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

(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。

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

(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, $6.22 \times 10^3 \text{ L/mol/cm}$; d: 比色皿光径, 1cm; V反总: 反应体系总体积, $2 \times 10^{-4} \text{ L}$; 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 10^4 为单位计算, 万个; T: 反应时间, 3min; 10^9 : 单位换算系数, $1 \text{ mol} = 10^9 \text{ nmol}$ 。

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

上海尚宝生物科技有限公司
 Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址:上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话:400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱: saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com