

肌酸激酶(CK)试剂盒(定磷法) (可见分光光度法)

产品货号: BA2678

产品规格: 24样

产品简介:

肌酸激酶(CK, EC 2.7.3.2)主要存在于心脏、肌肉及脑等组织中,能可逆地催化肌酸与ATP之间的转磷酸基反应,在能量运转、肌肉收缩和ATP再生中有重要作用。

肌酸激酶(CK)催化三磷酸腺苷和肌酸生成磷酸肌酸,后者很快全部水解为磷酸,但是三磷酸腺苷和生成的二磷酸腺苷仍很稳定:通过定磷试剂来测定磷酸肌酸水解出的磷酸含量检测CK酶活性大小。

产品内容:

产品名称	规格	保存条件	备注
提取液	液体30mL×1瓶	2-8℃	
试剂一	粉剂mg×1支	2-8℃	用前甩几下使试剂落入底部,再加1.2mL蒸馏水溶解(可超声溶解)。
试剂二	粉剂mg×1支	-20℃	用前甩几下使试剂落入底部,再加1.2mL蒸馏水溶解。
试剂三	液体23mL×1瓶	2-8℃	
试剂四	液体5mL×1瓶	2-8℃	
试剂五	A: 粉剂mg×瓶 B: 液体3mL×1瓶	2-8℃	临用前在试剂A中加2.9mL的B液,再加37.1mL的蒸馏水,混匀溶解备用。
标准品	粉剂mg×1支	2-8℃	若重新做标曲,则用到该试剂。

注:全程操作需无磷环境;试剂配置最好用新枪头和玻璃移液器等,避免磷污染。

所需的仪器和用品:

可见分光光度计、1mL玻璃比色皿、水浴锅、台式离心机、可调式移液器、研钵、冰和蒸馏水。

肌酸激酶(CK)活性测定:

建议正式实验前选取2个样本做预测定,了解本批样品情况,熟悉实验流程,避免实验样本和试剂浪费!

1. 样本制备:

① 组织样本:称取约0.1g组织,加入1mL提取液,进行冰浴匀浆。4℃×12000rpm离心10min,取上清,置冰上待测。

【注】:若增加样本量,可按照组织质量(g):提取液体积(mL)为1:5~10的比例进行提取。

② 细菌/细胞样本:

先收集细菌或细胞到离心管内,离心后弃上清;取约500万细菌或细胞加入1mL提取液,超声波破碎细菌或细胞(冰浴,功率200W,超声3s,间隔10s,重复30次);12000rpm 4℃离心10min,取上清,置冰上待测。

【注】:若增加样本量,可按照细菌/细胞数量(10^4):提取液(mL)为500~1000:1的比例进行提取。

① 液体样本:直接检测;若浑浊,离心后取上清检测。

2. 上机检测:

① 可见分光光度计预热30min以上,调节波长至700nm,所有试剂解冻至室温(25℃),蒸馏水调零。

② 试剂一和二和三可按照20:20:210预先配成混合液(现配现用);在EP管中依次加入:

试剂名称(μL)	测定管	对照管
试剂一	20	20
试剂二	20	20
试剂三	460	460
样本	100	



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

37°C 孵育 30min		
试剂四	80	80
样本		100
混匀，8000rpm，4°C离心5min，上清液待测。		

② 显色反应，在EP管中直接加入：

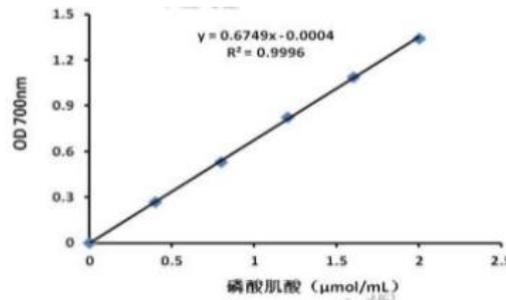
上清液	150	150
试剂五	600	600
混匀，室温静置10min，若浑浊则可8000rpm，4°C或室温离心5min，取全部澄清液体至1mL玻璃比色皿（光径1cm）中，于700nm下读取各管吸光值， $\Delta A = A_{测定} - A_{对照}$ （每个样本做一个自身对照）。		

【注】1.若 ΔA 低于0.01可增加②步中样本加样体积V1(如增至200 μ L，则试剂三相应减少，总反应体系不变)，或延长37°C孵育时间T(如增至60min)；或增加取样质量W；则改变后的V1和T和W需代入公式计算。

2.若A大于1.2，可用蒸馏水对③步中上清液稀释，则稀释倍数D代入公式计算。

结果计算：

1. 标准曲线方程： $y = 0.6749x - 0.0004$ ，x是标准品摩尔浓度(μ mol/mL)，y是 ΔA 。



2. 按蛋白浓度计算：

定义：每小时每毫克组织蛋白产生1 μ mol磷酸肌酸的量为一个酶活力单位。

酶活力(μ mol/h/mg prot)=[$(\Delta A + 0.0004) \div 0.6749 \times V2$] \div (V1 \times Cpr) \div T = 20.2 \times ($\Delta A + 0.0004$) \div Cpr

3. 按样本鲜重计算：

定义：每小时每克组织产生1 μ mol磷酸肌酸的量为一个酶活力单位。

酶活力(μ mol/h/g 鲜重)=[$(\Delta A + 0.0004) \div 0.6749 \times V2$] \div (W \times V1 \div V) \div T = 20.2 \times ($\Delta A + 0.0004$) \div W

4. 按细菌或细胞密度计算：

定义：每小时每1万个细菌或细胞产生1 μ mol磷酸肌酸的量为一个酶活力单位。

酶活力(μ mol/h/ 10^4 cell)=[$(\Delta A + 0.0004) \div 0.6749 \times V2$] \div (500 \times V1 \div V) \div T = 0.04 \times ($\Delta A + 0.0004$)

5. 按液体体积计算：

定义：每小时每毫升液体产生1 μ mol磷酸肌酸的量为一个酶活力单位。

酶活力(μ mol/h/mL)=[$(\Delta A + 0.0004) \div 0.6749 \times V2$] \div V1 \div T = 20.2 \times ($\Delta A + 0.0004$)

V---加入提取液体积，1mL；V1---加入样本体积，0.1mL；W---样本鲜重，g；V2---酶促反应总体积，0.68mL；

T--反应时间，1/2小时；500---细菌或细胞总数，500万；Cpr---样本蛋白质浓度，mg/mL；

建议使用本公司的BCA蛋白含量检测试剂盒。

附：标准曲线制作过程：

1. 制备标准品母液(20 μ mol/mL)：标准品用1mL蒸馏水溶解。(母液需在两天内用)。

2. 把母液用蒸馏水稀释成六个浓度标准品：0,0.4,0.8,1.2,1.6,2 μ mol/mL。也可根据实际样本来调整标准品浓度。



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

3. 依据③步中显色反应阶段测定管的加样体系操作，根据结果即可制作标准曲线。



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>