

肌酸激酶 (Creatine Kinase, CK) 测定试剂盒说明书

分光光度法 50 管/48 样

正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定

测定意义:

CK(EC 2.7.3.2)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,在能量运转、肌肉收缩和 ATP 再生中有重要作用,是临床诊断心脑血管疾病的一个重要指标。

测定原理:

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。

组成:

产品名称	AE013-50T/48S	Storage
提取液:	60ml	4°C
试剂一: 粉剂	1 瓶	4°C避光
试剂二: 液体	15ml	4°C
说明书	一份	

试剂一: 粉剂 1 瓶, 4°C避光保存, 使用前加 15ml 蒸馏水溶解。

工作液: 临用前根据用量将试剂一和试剂二以 1:1 混合。使用前 37°C温育 2min。

自备仪器和用品:

天平、低温离心机、恒温水浴锅、紫外分光光度计、1 ml 石英比色皿和蒸馏水。

粗酶液提取:

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°C离心 15min, 取上清, 置冰上待测。
2. 血清样本: 直接测定。

测定步骤:

1. 紫外分光光度计预热 30min, 调节波长至 340nm, 蒸馏水调零。

最终解释权所有 © 伊势久 (江苏连云港) 生物科技有限责任公司, 保留一切权利



伊势久(江苏连云港)生物科技有限责任公司

江苏省连云港市海州区花果山大道 17 号



服务热线: 0518-81263339

官网:<http://www.bio149.com>

2. 在 1 ml 石英比色皿中加入 200 μ l 样本和 300 μ l 蒸馏水, 最后加入 500 μ l 工作液, 立即混匀, 37 $^{\circ}$ C 下测定初始吸光值 A1 与 1min 后的吸光值 A2, $\Delta A = A2 - A1$ 。

CK 活性计算公式

1、按组织蛋白含量计算

酶活定义: 37 $^{\circ}$ C, pH7.0 时, 每毫克蛋白质 1min 内催化产生 1nmol NADPH 为一个酶活单位。

$$\text{CK 活性 (nmol/min / mg prot)} = \frac{\Delta A}{\epsilon \times d} \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \times \text{Cpr}) = 804 \times \Delta A \div \text{Cpr}$$

2、按组织样本质量计算:

酶活定义: 37 $^{\circ}$ C, pH7.0 时, 每克样品 1min 内催化产生 1nmol NADPH 为一个酶活单位。

$$\text{CK 活性 (nmol/min / g 鲜重)} = \frac{\Delta A}{\epsilon \times d} \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times W) = 804 \times \Delta A \div W$$

3. 按血清计算:

酶活定义: 37 $^{\circ}$ C, pH7.0 时, 每升血清 1min 内催化产生 1nmol NADPH 为一个酶活单位。

$$\text{CK 活性 (nmol/min / L)} = \frac{\Delta A}{\epsilon \times d} \times V_{\text{反总}} \div V_{\text{样}} = 804 \times \Delta A$$

ϵ : NADPH 摩尔消光系数, 6220 L / mol / cm; d: 比色皿光径, 1cm; $V_{\text{反总}}$: 反应体系总体积, 1ml; $V_{\text{样}}$: 反应体系中样本体积, 0.2ml; T, 反应时间, 1min; Cpr: 样本蛋白浓度, mg/ml; W: 样本质量, g

注意事项

1. 配制好的工作液 4 $^{\circ}$ C 稳定 7 天, 请配制后尽快使用。
2. 血清的 CK 不稳定, 采集样本后尽快测定, 4 $^{\circ}$ C 避光保存可稳定 24h。
3. 样品蛋白质含量需要另外测定, 可选用 BCA 蛋白含量测定试剂盒进行测定。
4. OD 值大于 0.5 可用提取液适当稀释样品, 并在计算公式中相应的改变稀释倍数。

