

肌酸激酶 (Creatine Kinase, CK) 测定试剂盒说明书

微量法 100 管/96 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	AE014-100T/96S	Storage
提取液:	100ml	4°C
试剂一: 粉剂	1 瓶	4°C避光
试剂二: 液体	10ml	4°C
说明书	一份	

试剂一: 粉剂 1 瓶, 4°C避光保存, 使用前加 10 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、酶标仪、96 孔板和蒸馏水。

粗酶液提取:

1. 组织样本: 按照组织质量 (g) : 提取液体积()为 1: 5~10 的比例 (建议称取约 0.1g 组织, 加入 1 提取液) 进行冰浴匀浆, 然后 10000g, 4°C, 离心 15min。
2. 血清样本: 直接测定。

测定步骤:

1. 酶标仪预热 30min, 调节波长至 340nm。



2. 在 96 孔板中加入 40 μ l 样本和 60 μ l 蒸馏水, 最后加入 100 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 酶活性计算:

(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。

$$\text{CK 活性 (nmol/min/mg prot)} = \frac{\Delta A}{\epsilon \times d} \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \times \text{Cpr}) \div T = 1608 \times \Delta A \div \text{Cpr}$$

(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。

$$\text{CK 活性 (nmol/min/g 鲜重)} = \frac{\Delta A}{\epsilon \times d} \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times W) \div T = 1608 \times \Delta A \div W$$

(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。

$$\text{CK 活性 (nmol/min/l)} = \frac{\Delta A}{\epsilon \times d} \times V_{\text{反总}} \div V_{\text{样}} \div T = 1608 \times \Delta A$$

ϵ : NADPH 摩尔消光系数, 6220 L/mol/cm; d: 96 孔板光径, 0.5cm; $V_{\text{反总}}$: 反应体系总体积, 0.2; $V_{\text{样}}$: 反应体系中样本体积, 0.04; T, 反应时间, 1min; Cpr: 样本蛋白浓度, mg/; 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。

