

肌酸激酶 (CK) 活性检测试剂盒 (微量法)

(本试剂盒仅供科研使用)

产品包装

产品编号	产品名称	产品规格
YFX0241	肌酸激酶 (CK) 活性检测试剂盒-微量法	100 管/96 样

产品内容

名称	规格	储存条件
提取液	液体 100mL×1 瓶	4℃
试剂一	粉剂×1 瓶, 使用前加 10mL 蒸馏水溶解。	4℃, 避光
试剂二	液体 10mL×1 瓶	4℃
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℃温育 2min.	

一、产品说明

肌酸激酶 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。

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。

二、自备材料

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 孔板和蒸馏水。

三、粗酶液提取 (可适当调整样品量, 具体比例可参考相应文献)

- 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。
- 2、血清样本: 直接测定。

四、操作步骤

正式测定前, 必需取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定

- 1、分光光度计或酶标仪预热 30min 以上, 调节波长至 340nm, 蒸馏水调零。

- 2、加样表 (使用 EP 管)

试剂名称 (μL)	空白管	测定管
粗酶液		60
工作液	150	150
蒸馏水	150	90
混匀, 取 200μL 于微量石英比色皿/96 孔板中, 测定管调零, 测定 340nm 的初始值 A ₁ , 37℃反应 3min, 分别测定 1min, 2min, 3min 时的吸光值 A ₂ , 计算时取平均值, $\Delta A = A_2 - A_1$ 。		

五、CK 活性的计算

A. 用微量石英比色皿测定的计算公式如下

1、按找组织蛋白含量计算

酶活定义: 37℃, pH7.0时, 每毫克蛋白质1min内催化产生1nmol NADPH为一个酶活单位。

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

2、按组织样本质量计算

酶活定义: 37℃, pH7.0时, 每克样品1min内催化产生1nmol NADPH为一个酶活单位。

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

3、按血清体积计算

酶活定义: 37℃, pH7.0时, 每升血清1min内催化产生1nmol NADPH为一个酶活单位。

CK 活性 (nmol/min/L) = $\Delta A \div e \div d \times V_{\text{反总}} \div V_{\text{样}} \times 1000 = 804000 \times \Delta A$

e: NADPH 微摩尔消光系数, 6220 L/mol/cm; d: 比色皿光径, 1cm; V 反总: 反应体系总体积, 0.3mL; V 样: 反应体系中样本体积, 0.06mL; Cpr: 样本蛋白浓度, mg/mL; W: 样本质量, g。

B. 用 96 孔板计算公式如下

1、按找组织蛋白含量计算

酶活定义: 37℃, pH7.0时, 每毫克蛋白质1min内催化产生1nmol NADPH为一个酶活单位。

CK 活性 (nmol/min/mg prot) = $\Delta A \div e \div d \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \times C_{\text{pr}}) = 1608 \times \Delta A \div C_{\text{pr}}$

2、按组织样本质量计算

酶活定义: 37℃, pH7.0 时, 每克样品1min内催化产生1nmol NADPH为一个酶活单位。

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

3、按血清体积计算

酶活定义: 37℃, pH7.0时, 每升血清1min内催化产生1nmol NADPH为一个酶活单位。

CK 活性 (nmol/min/L) = $\Delta A \div e \div d \times V_{\text{反总}} \div V_{\text{样}} \times 1000 = 1608000 \times \Delta A$

e: NADPH 摩尔消光系数, 6220 L/mol/cm; d: 96 孔板光径, 0.5cm; V 反总: 反应体系总体积, 0.3mL; V 样: 反应体系中样本体积, 0.06mL; Cpr: 样本蛋白浓度, mg/mL; W: 样本质量, g。

六、注意事项

- 1、空白管只需测定一次。
- 2、配制好的工作液 4℃稳定 7 天, 请尽量配制后尽快使用。
- 3、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。
- 4、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。
- 5、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。