



肌酸激酶(CK)试剂盒

紫外分光光度法

货号: R45018-48S

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。

CK 催化磷酸肌酸和ADP 生成肌酸和ATP, 通过添加的己糖激酶与6-磷酸葡萄糖脱氢酶复合体, 依次催化ATP 的水解与并伴随着NADPH 的生成, 通过检测NADPH在340nm 处吸光值的增加即可得出CK 酶活性的大小。

试剂盒的组成和配制:

试剂名称	规格	保存要求	备注
提取液	液体60mL×1瓶	4℃保存	
试剂一	粉剂×1支	4℃保存	临用前甩几下, 使粉剂落到底部, 再加1.1mL蒸馏水充分溶解。
试剂二	粉剂×1支	-20℃保存	临用前甩几下, 使粉剂落到底部, 再加1.1mL蒸馏水充分溶解。
试剂三	液体16mL×1瓶	4℃保存	
试剂四	粉剂×4支	4℃保存	临用前甩几下, 使粉剂落到底部, 每支加0.3mL蒸馏水充分溶解

所需的仪器和用品:

紫外分光光度计、1mL 石英比色皿(光径1cm)、 低温离心机、可调式移液器、恒温培养箱、研钵。

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, 转移至EP 管中, 12000rpm, 4℃ 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(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。

③液体样本: 直接检测; 若浑浊则离心后取上清检测。

2、上机检测:

①紫外分光光度计预热30min, 设定温度至37℃, 调节波长至340nm, 蒸馏水调零。

②所有试剂可预先在37℃条件下预温5min。

③ 在 1mL 石英比色皿中依次加入:

试剂名称(μ L)	测定管
样本	80
试剂一	20
试剂二	20
试剂三	560
37℃条件下孵育20min,	
试剂四	20
混匀, 37℃条件下, 立即于340nm处读取A1, 15min后读取A2, $\Delta A = A2 - A1$ 。	

结果计算:

1、按组织蛋白含量计算:

定义: 37℃条件下, 每毫克蛋白质在每分钟内催化产生 $\ln\text{moLNADPH}$ 为一个酶活单位。



$$\text{CK 活性}(\text{nmol/min/mg prot})=[\Delta A \div (\epsilon \times d) \times V_2 \times 10^9] \div (V_1 \times \text{Cpr}) \div T$$

$$=93.8 \times \Delta A \div \text{Cpr}$$

2、按组织样本质量计算:

定义: 37℃条件下, 每克样品在每分钟内催化产生1nmolNADPH 为一个酶活单位。

$$\text{CK 活性}(\text{nmol/min/g 鲜重})=[\Delta A \div (\epsilon \times d) \times V_2 \times 10^9] \div (V_1 \div V \times W) \div T$$

$$=93.8 \times \Delta A \div W$$

3、按细胞数量计算:

定义: 37℃条件下, 每10⁴个细胞每分钟内催化产生 1nmolNADPH 为一个酶活单位。

$$\text{CK 活性}(\text{nmol/min/10}^4\text{cell})=[(\Delta A \div (\epsilon \times d) \times V_2 \times 10^9) \div (500 \times V_1 \div V) \div T$$

$$=0.19 \times \Delta A$$

4、按血清计算:

定义: 37℃条件下, 每毫升液体在每分钟内催化产生 1nmolNADPH 为一个酶活单位。

$$\text{CK 活性}(\text{nmol/min/mL})=[\Delta A \div (\epsilon \times d) \times V_2 \times 10^9] \div V_1 \div T$$

$$=93.8 \times \Delta A$$

V---加入提取液体积, 1mL;

V1--- 加入样本体积, 0.08mL;

V2--- 反应体系总体积, 7×10⁻⁴ L;

d--- 光径, 1cm;

ε---NADPH 摩尔消光系数, 6.22×10³L/mol/cm;

W--- 样本质量, g;

T---反应时间, 15min;

Cpr--- 蛋白浓度 (mg/mL), 建议使用本公司的BCA ,蛋白含量测定试剂盒。