



肌酸激酶(CK)试剂盒(定磷法)

可见分光光度法

货号: R45019-24S/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。

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。

试剂盒的组成和配制:

试剂名称	R45019-24S	保存要求	备注
提取液	提取液30mL×1瓶	4℃保存	
试剂一	粉体mg×1支	4℃保存	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	粉体mg×1支	-20℃保存	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)。
试剂三	液体23mL×1瓶	4℃保存	
试剂四	液体5mL×1瓶	4℃保存	
试剂五	A:粉体mg×1瓶 B:液体3mL×1瓶	4℃保存	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	粉体mg×1支	4℃保存	若重新做标曲, 则用到该试剂

试剂名称	R45019-48S	保存要求	备注
提取液	提取液60mL×1瓶	4℃保存	
试剂一	粉体mg×1支	4℃保存	用前甩几下使试剂落入底部, 再加 2.2mL蒸馏水溶解(可超声溶解)。
试剂二	粉体mg×1支	-20℃保存	用前甩几下使试剂落入底部, 再加 2.2mL蒸馏水溶解(可超声溶解)。



试剂三	液体46mL×1瓶	4℃保存	
试剂四	液体9mL×1瓶	4℃保存	
试剂五	A:粉体mg×1瓶 B:液体5mL×1瓶	4℃保存	临用前在试剂A中加4.6mL的B液，再加59.4mL的蒸馏水，混匀溶解备用。
标准品	粉体mg×1支	4℃保存	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(光径1cm)、水浴锅、台式离心机、可调式移液器。

肌酸激酶 (CK) 活性检测:

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。

③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 以上调至700nm, 试剂解至室温(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:

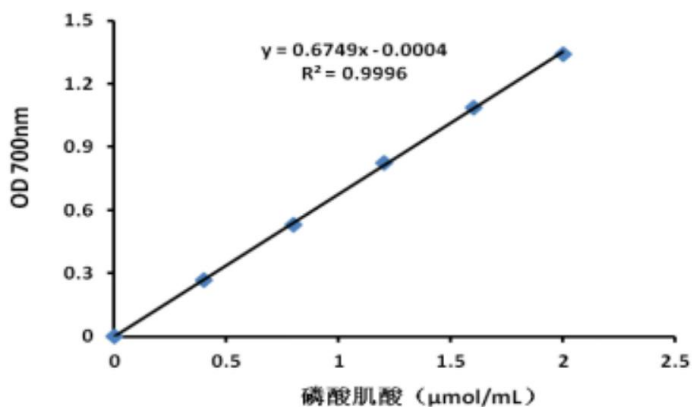
试剂名称(μL)	测定管	对照管
试剂一	20	20
试剂二	20	20
试剂三	460	460
样本	100	
37℃孵育30min		
试剂四	80	80
样本		100
混匀, 8000rpm,4℃离心5min,上清液待测。		

③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℃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, $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ (每个样本做一个自身对照)。		

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($\mu\text{mol/mL}$),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 $1\mu\text{mol}$ 磷酸肌酸的量为一个酶活力单位。

$$\begin{aligned}\text{酶活力}(\mu\text{mol/h/mg prot}) &= [(\Delta A + 0.0004) \div 0.6749 \times V_2] \div (V_1 \times \text{Cpr}) \div T \\ &= 20.2 \times (\Delta A + 0.0004) \div \text{Cpr}\end{aligned}$$

3、按样本鲜重计算:

定义: 每小时每克组织产生 $1\mu\text{mol}$ 磷酸肌酸的量为一个酶活力单位。

$$\begin{aligned}\text{酶活力}(\mu\text{mol/h/g 鲜重}) &= [(\Delta A + 0.0004) \div 0.6749 \times V_2] \div (W \times V_1 \div V) \div T \\ &= 20.2 \times (\Delta A + 0.0004) \div W\end{aligned}$$

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 $1\mu\text{mol}$ 磷酸肌酸的量为一个酶活力单位。

$$\begin{aligned}\text{酶活力}(\mu\text{mol/h}/10^4\text{cell}) &= [(\Delta A + 0.0004) \div 0.6749 \times V_2] \div (500 \times V_1 \div V) \div T \\ &= 0.04 \times (\Delta A + 0.0004)\end{aligned}$$

5、按液体体积计算:

定义: 每小时每毫升液体产生 $1\mu\text{mol}$ 磷酸肌酸的量为一个酶活力单位。

$$\begin{aligned}\text{酶活力}(\mu\text{mol/h/mL}) &= [(\Delta A + 0.0004) \div 0.6749 \times V_2] \div V_1 \div T \\ &= 20.2 \times (\Delta A + 0.0004)\end{aligned}$$

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;

50---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:



上海源叶生物科技有限公司
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd
电话: 400-666-5481 传真: 021-55068248
网址: www.shyuanye.com
邮箱: 3008007435@qq.com

- 1.制备标准品母液($20\mu\text{mol/mL}$): 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. $\mu\text{mol/mL}$ 。
- 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。



源叶