

Creatine Content Assay Kit

肌酸含量（酶法）检测试剂盒说明书

货号:BN72289 | 方法: 微板法 | 规格: 96 样

一、产品简介:

肌酸是一种内源性化合物,其功能是通过肌酸激酶的磷酸化使机体维持高的ATP/ADP比率。肌酸补充剂是一种运动性能增强剂,亦用于治疗肌肉和神经退行性疾病。因此肌酸的检测在研究和开发中具有广泛的应用。

本试剂盒利用肌酸酶特异作用于肌酸生成肌氨酸,肌氨酸在肌氨酸氧化酶的作用下生成过氧化氢,过氧化氢与显色剂反应呈现(粉)红色,该有色物质在520nm有最大吸收峰,进而计算得到肌酸含量。

二、试剂盒组分与配制:

试剂名称	规格	保存要求	备注
提取液	液体 100mL×1 瓶	4℃保存	
试剂一	液体 11mL×1 瓶	4℃保存	
试剂二	液体 8mL×1 瓶	4℃保存	
试剂三	粉体 mg×1 支	-20℃保存	临用前甩几下使液体落入底部,再加 1.1mL 的蒸馏水溶解备用,可-20℃分装冻存,禁止反复冻融。
试剂四	粉体 mg×1 支	-20℃保存	临用前甩几下使液体落入底部,再加 1.1mL 的蒸馏水溶解备用,可-20℃分装冻存,禁止反复冻融。
标准管	液体 1mL×1 支	4℃保存	临用前用蒸馏水稀释 2 倍,即 0.5mg/mL肌酸溶液。

三、所需仪器和用品:

酶标仪、96 孔板、可调式移液器、离心机、蒸馏水。

四、肌酸含量检测:

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:

取约 0.1g 组织样本,加 1mL 的提取液研磨,粗提液全部转移到 EP 管中,12000rpm,常温离心 10min,上清液待测。

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（10⁴）：提取液（mL）为 500~1000：1 的比例进行提取。

③ 液体样品：澄清的液体可直接检测；若浑浊则离心后取上清液检测。

2、上机检测：

①酶标仪预热 30min，设置温度在 37℃，设定波长到 520nm。

②做实验前选取 2 个样本，找出适合本次检测样本的稀释倍数 D。

③所有试剂解冻至室温，在 96 孔板中依次加入：

试剂名称（μL）	测定管	空白管 （仅做一次）	标准管 （仅做一次）
样本	10		
蒸馏水		10	
标准品			10
试剂一	100	100	100
试剂二	70	70	70
试剂三	10	10	10
混匀，37℃避光孵育 10min，			
试剂四	10	10	10
混匀，37℃避光反应 30min，520nm 处读取吸光值 A（直到 A 值不变）， ΔA=A 测定-A 空白。			

注意：本操作流程适用于绝大多数常规样本检测，实验条件可根据实际样本状态适度微调；

针对特殊类型样本，我司技术支持可提供专属优化建议。

五、结果计算：

1、按照质量计算：

$$\begin{aligned}\text{肌酸含量}(\mu\text{mol/g}) &= (\text{C 标准} \times V_1) \times \Delta A \div (\text{A 标准} - \text{A 空白}) \div (V_1 \div V \times W) \times D \times 10^3 \div \text{Mr} \\ &= 3.81 \times \Delta A \div (\text{A 标准} - \text{A 空白}) \times D \div W\end{aligned}$$

2、按细胞数量计算：

$$\begin{aligned}\text{肌酸含量}(\text{nmol}/10^4 \text{ cell}) &= (\text{C 标准} \times V_1) \times \Delta A \div (\text{A 标准} - \text{A 空白}) \div (V_1 \div V \times 500) \times D \times 10^6 \div \text{Mr} \\ &= 7.63 \times \Delta A \div (\text{A 标准} - \text{A 空白}) \times D\end{aligned}$$

3、按照体积计算：

$$\begin{aligned}\text{肌酸含量}(\mu\text{mol/L}) &= (\text{C 标准} \times V_1) \times \Delta A \div (\text{A 标准} - \text{A 空白}) \div V_1 \times D \times 10^6 \div \text{Mr} \\ &= 3813 \times \Delta A \div (\text{A 标准} - \text{A 空白}) \times D\end{aligned}$$

C 标准---标品浓度，0.5mg/mL；

Mr---标准品分子量，131.13；

V---提取液体积，1mL；

V1---加入样本体积，0.01mL；

500---细胞数量，万；

D---稀释倍数，未稀释即为 1。