

Creatine Kinase Activity Kit

肌酸激酶（CK）测定试剂盒说明书

货号: BN72292 | 方法: 紫外分光法 | 规格: 48 样

一、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。

二、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。

三、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。

四、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（10⁴）：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 (μL)	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, $\Delta A = A2 - A1$ 。	

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 1nmolNADPH 为一个酶活单位。

$$\text{CK 活性(nmol/min/mg prot)} = [\Delta A \div (\epsilon \times d) \times V2 \times 10^9] \div (V1 \times \text{Cpr}) \div T = 93.8 \times \Delta A \div \text{Cpr}$$

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。

$$\text{CK 活性(nmol/min/g 鲜重)} = [\Delta A \div (\epsilon \times d) \times V2 \times 10^9] \div (V1 \div V \times W) \div T = 93.8 \times \Delta A \div W$$

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。

$$\text{CK 活性(nmol/min/10}^4 \text{ cell)} = [(\Delta A \div (\epsilon \times d) \times V2 \times 10^9) \div (500 \times V1 \div V) \div T = 0.19 \times \Delta A$$

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。

$$\text{CK 活性(nmol/min/mL)} = [\Delta A \div (\epsilon \times d) \times V2 \times 10^9] \div V1 \div T = 93.8 \times \Delta A$$

V---加入提取液体积，1 mL；

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，6.22×10³ L/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。