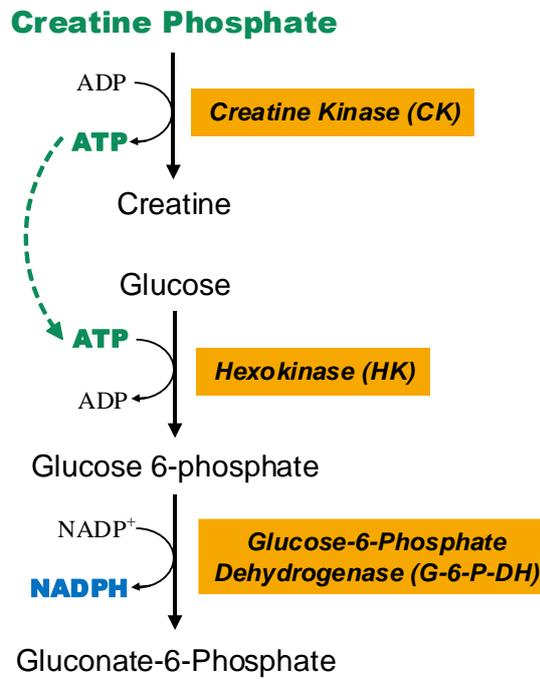




肌酸激酶 (CK) 活性检测试剂盒
Creatine Kinase (CK) Activity Assay Kit



北京盒子生工科技有限公司
Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.



肌酸激酶 (CK) 活性检测试剂盒

Creatine Kinase (CK) Activity Assay Kit

一、产品描述

肌酸激酶 (CK) 主要存在于心脏、肌肉以及脑等组织中，可逆地催化肌酸与 ATP 之间的转磷酸基反应，是一个与细胞能量运转、肌肉收缩、ATP 再生等有直接关系的重要激酶。

肌酸激酶能够催化磷酸肌酸和 ADP 生成肌酸和 ATP，己糖激酶 (Hexokinase) 催化 ATP 和葡萄糖合成 6-磷酸葡萄糖，6-磷酸葡萄糖脱氢酶进一步催化 6-磷酸葡萄糖脱氢生成 NADPH，NADPH 在 340 nm 有特征吸收峰，通过测定 340 nm 处吸光值变化即可表征肌酸激酶的活性。

二、产品内容

名称	试剂规格	储存条件	使用说明及注意事项
提取液	液体 60 mL×1 瓶	4°C 保存	-
试剂一	粉剂×1 瓶	-20°C 保存	使用前加入 10 mL 蒸馏水充分溶解 (可分装后-20°C 保存, 避免反复冻融)
试剂二	粉剂×1 支	-20°C 保存	使用前加入 0.5 mL 蒸馏水充分溶解 (可分装后-20°C 保存, 避免反复冻融)
试剂三	粉剂×2 支	-20°C 保存	使用前取 1 支加入 0.5 mL 蒸馏水充分溶解 (可分装后-20°C 保存, 避免反复冻融)
试剂四	粉剂×2 支	-20°C 保存	使用前取 1 支加入 0.65 mL 蒸馏水充分溶解 (可分装后-20°C 保存, 避免反复冻融)
试剂五	液体 15 mL×1 瓶	4°C 保存	-
CK 工作液的配制 (现用现配): 根据使用量按试剂一: 试剂二: 试剂三: 试剂四: 试剂五 =70:4:7:10:90 的体积比充分混合 (配制后室温放置 20 min 再进行使用)。			

三、产品使用说明

测定过程中所需要的仪器和试剂: 紫外分光光度计、1 mL 石英比色皿 (光径 1 cm)、研钵/匀浆器、可调式移液器、台式离心机、恒温水浴/培养箱和蒸馏水。

1. 粗酶液的制备 (可根据预实验结果适当调整样本量及比例)

①组织: 按照组织质量 (g): 提取液体积 (mL) 为 1: (5-10) 的比例 (建议称取 0.1 g 组织, 加入 1 mL 提取液) 处理样品, 冰浴匀浆, 4°C 10000 g 离心 10 min, 取上清置于冰上待测。

②细菌或细胞:离心收集细菌或细胞至离心管内,按照细菌或细胞数量(10^4 个):提取液体积(mL)为(500-1000):1的比例(建议500万个细菌或细胞加入1 mL提取液)处理样品,冰浴超声破碎(功率300 W,超声3 s,间隔7 s,总时间3 min), 4°C 10000 g离心10 min,取上清置于冰上待测。

③血清、培养液等液体样本:直接测定或适当稀释后再进行测定。注:血清中肌酸激酶不稳定,采集样本后应尽快测定, 4°C 避光保存可稳定24 h。

2.测定步骤

①分光光度计预热30 min以上,调节波长至340 nm,蒸馏水调零。

②在1 mL石英比色皿中依次加入下列试剂:

试剂	测定组 (μL)	空白组 (μL)
粗酶液	200	-
CK工作液	450	450
蒸馏水	350	550

吸光值测定: ①立即充分混合并开始计时,测定10 s(总时间)时340 nm处吸光值,记为A1测定和A1空白; ② 37°C 恒温反应180 s,立即测定190 s(总时间)时340 nm处吸光值,记为A2测定和A2空白; ③计算 $\Delta A_{\text{测定}} = A2_{\text{测定}} - A1_{\text{测定}}$, $\Delta A_{\text{空白}} = A2_{\text{空白}} - A1_{\text{空白}}$, $\Delta A = \Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}$ 。
注:空白组只需测定1-2次。

3.肌酸激酶(CK)活性计算

①按组织蛋白浓度计算

37°C pH=7.0条件下,每mg组织蛋白每分钟催化产生1 nmol NADPH定义为一个酶活力单位。

$$\text{CK (U/mg prot)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times 10^9}{\epsilon \times d \times C_{\text{pr}} \times V_{\text{样}} \times T} = \frac{268 \times \Delta A}{C_{\text{pr}}}$$

②按组织样本质量计算

37°C pH=7.0条件下,每g组织样本每分钟催化产生1 nmol NADPH定义为一个酶活力单位。

$$\text{CK (U/g)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{样总}} \times 10^9}{\epsilon \times d \times W \times V_{\text{样}} \times T} = \frac{268 \times \Delta A}{W}$$

③按细菌或细胞数量计算

37°C pH=7.0条件下,每 10^4 个细胞每分钟催化产生1 nmol NADPH定义为一个酶活力单位。

$$\text{CK (U/10}^4 \text{ cell)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{样总}} \times 10^9}{\epsilon \times d \times \text{细菌或细胞数量} \times V_{\text{样}} \times T} = \frac{268 \times \Delta A}{\text{细菌或细胞数量}}$$

④按液体样本体积计算

37°C pH=7.0 条件下, 每 mL 液体样本每分钟催化产生 1 nmol NADPH 定义为一个酶活力单位。

$$CK (U/mL) = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times 10^9}{\epsilon \times d \times V_{\text{样}} \times T} = 268 \times \Delta A$$

注释: V 样: 反应体系中加入粗酶液的体积, 0.2 mL; V 样总: 粗酶液总体积, 1 mL; V 反总: 反应体系总体积, 1 mL=1×10⁻³ L; ε: NADPH 的摩尔消光系数, 6.22×10³ L/mol/cm; d: 1 mL 石英比色皿光径, 1 cm; Cpr: 样本蛋白浓度, mg/mL; W: 样本质量, g; 细菌或细胞数量: 以万计; T: 反应时间, 180 s=3 min; 10⁹: 单位换算系数, 1 mol=10⁹ nmol。

四、注意事项

- ①若 ΔA 大于 0.6 建议将粗酶液使用提取液适当稀释后再进行测定, 计算时相应修改;
- ②准确在 10 s 和 190 s 处完成读数, 以保证实验结果的准确性;
- ③为保证结果准确且避免试剂损失, 测定前请仔细阅读说明书 (以实际收到说明书内容为准), 确认试剂储存和准备是否充分, 操作步骤是否清楚, 且务必取 2-3 个预期差异较大的样本进行预测定, 过程中问题请您及时与工作人员联系。

For Research Use Only. Not for Use in Diagnostic Procedures.

boxbio

Manufactured and Distributed by

Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.
Liandong U Valley, Tongzhou District, Beijing, China

TEL: 400-805-8228

E-MAIL: techsupport@boxbio.cn

Copyright © 2020 Boxbio, All Rights Reserved.

