

上海茁彩生物科技有限公司
ZCIBIO Technology Co., Ltd



生化检测原理示意图

Cat. NO: ZC-S0324

Size: 100T/96S

肌酸激酶检测试剂盒说明书

微量法

*正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定

一、测定意义：

CK (EC 2.7.3.2) 主要存在于心脏、肌肉以及脑等组织中，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，是临床诊断心脑血管疾病的一个重要指标。

二、测定原理：

CK催化磷酸肌酸和ADP生成肌酸和ATP，己糖激酶催化ATP与葡萄糖形成6-磷酸葡萄糖，6-磷酸葡萄糖脱氢酶催化6-磷酸葡萄糖与NADP⁺生成NADPH，导致340nm光吸收值增加。

三、需自备的仪器和用品：

天平、低温离心机、恒温水浴锅、紫外分光光度计/酶标仪、微量石英比色皿/96 孔板 (ZC-1036: UV板) 和蒸馏水。

四、试剂的组成和配置：

种类	试剂规格	储存条件	使用方法及注意事项
提取液	液体 100mL×1 瓶	4℃保存	
试剂一	粉剂 1 瓶	4℃避光保存	使用前加 10mL 蒸馏水溶解
试剂二	液体 10mL×1 瓶	4℃保存	
工作液：临用前根据用量将试剂一和试剂二以 1:1 混合。使用前 37℃温育 2min。			

五、粗酶液提取：

1. 组织样本：按照组织质量（g）：提取液体积（mL）为1：5~10的比例（建议称取约0.1g组织，加入1mL提取液）进行冰浴匀浆，然后10000g，4℃，离心15min。
2. 血清样本：直接测定。

六、测定操作表：

1. 分光光度计/酶标仪预热30min，调节波长至340nm。
2. 操作表

	空白管	测定管
样本/酶液（μL）		60
工作液（μL）	150	150
H ₂ O（μL）	150	90

混匀，取200μL于微量石英比色皿/96孔板（UV板）中，测定管调零，测定340nm的初始值A1，37℃反应 3min，分别测定 1min，2min，3min 时的吸光值A2，计算时取平均值， $\Delta A = A2 - A1$ 。

注意：空白管只需测定一次。

七、CK 活性计算公式：

- 用微量石英比色皿测定的计算公式如下

（1）按组织蛋白含量计算

酶活定义：37℃，pH7.0时，每毫克蛋白质1min内催化产生1nmol NADPH为一个酶活单位。

$$\text{CK 活性 (nmol/min/mg prot)} = \Delta A \div e \div d \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \times C_{\text{pr}}) = 804 \times \Delta A \div C_{\text{pr}}$$

（2）按组织样本质量计算：

酶活定义：37℃，pH7.0时，每克样品1min内催化产生1nmol NADPH为一个酶活单位。

$$\text{CK 活性 (nmol/min/g)} = \Delta A \div e \div d \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times W) = 804 \times \Delta A \div W$$

（3）按血清计算：

酶活定义：37℃，pH7.0时，每升血清1min内催化产生1nmol NADPH为一个酶活单位。

$$\text{CK 活性 (nmol/min/L)} = \Delta A \div e \div d \times V_{\text{反总}} \div V_{\text{样}} \times 1000 = 804000 \times \Delta A$$

e: NADPH 微摩尔消光系数，6220 L/mol/cm；d: 比色皿光径，1cm；V反总：反应体系总体积，0.3mL；V 样：反应体系中样本体积，0.06mL；Cpr: 样本蛋白浓度，mg/mL；W: 样本质量，g

● 用96孔板（UV板）计算公式如下

（1）按组织蛋白含量计算

酶活定义：37℃，pH7.0时，每毫克蛋白质1min内催化产生1nmol NADPH为一个酶活单位。

$$\text{CK 活性 (nmol/min/mg prot)} = \Delta A \div e \div d \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \times C_{\text{pr}}) = 1608 \times \Delta A \div C_{\text{pr}}$$

（2）按组织样本质量计算：

酶活定义：37℃，pH7.0 时，每克样品1min内催化产生1nmol NADPH为一个酶活单位。

$$\text{CK 活性 (nmol/min/g)} = \Delta A \div e \div d \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times W) = 1608 \times \Delta A \div W$$

（3）按血清计算：

酶活定义：37℃，pH7.0时，每升血清1min内催化产生1nmol NADPH为一个酶活单位。

$$\text{CK 活性 (nmol/min/L)} = \Delta A \div e \div d \times V_{\text{反总}} \div V_{\text{样}} \times 1000 = 1608000 \times \Delta A$$

e: NADPH 摩尔消光系数，6220 L/mol/cm；d: 96 孔板光径，0.5cm；V反总：反应体系总体积，0.3mL；V样：反应体系中样本体积，0.06mL；Cpr：样本蛋白浓度，mg/mL；W：样本质量，g

八、注意事项：

1. 配制好的工作液 4℃稳定 7 天，请尽量配制后尽快使用。
2. 血清的 CK 不稳定，采集样本后尽快测定，4℃避光保存可稳定 24h。
3. 样品蛋白质含量需要另外测定，可选用本公司 BCA 蛋白质含量测定试剂盒（货号：ZC-S0470）进行测定。
4. OD 值大于 0.5 可用提取液适当稀释样品，并在计算公式中相应的改变稀释倍数。