

上海茁彩生物科技有限公司  
Shanghai zcibio technology Co., Ltd.



生化检测原理示意图

## 肌酸激酶检测试剂盒说明书 微量法

**注意：**正式测定之前选择2-3个预期差异大的样本做预测定。

**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。

**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<sup>+</sup>生成NADPH，导致340nm光吸收值增加。

**自备实验用品及仪器：**

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（UV板）和蒸馏水。

**试剂组成和配制：**

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。

**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。

**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 <sub>2</sub> 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。

CK 活性计算公式:

**a. 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°C, pH7.0时, 每毫克蛋白质1min内催化产生1nmol NADPH为一个酶活单位。

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

(2) 按组织样本质量计算:

酶活定义: 37°C, 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°C, 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

**b. 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°C, pH7.0时, 每毫克蛋白质1min内催化产生1nmol NADPH为一个酶活单位。

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

(2) 按组织样本质量计算:

酶活定义: 37°C, 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°C, 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

注意事项:

1. 配制好的工作液 4°C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°C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 BCA 蛋白含量测定试剂盒进行测定。
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。