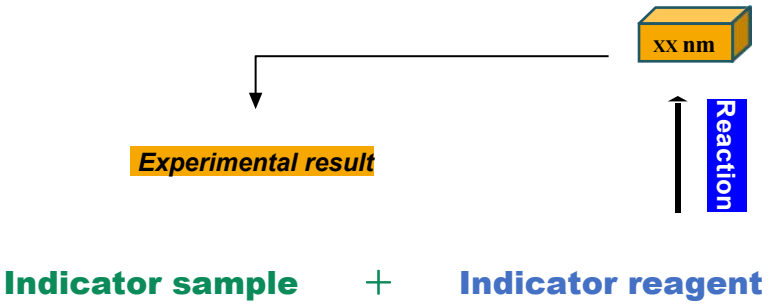
上海茁彩生物科技有限公司

Shanghai zcibio technology Co.,Ltd.



生化检测原理示意图

货号：ZC-S0594　　规格：50管/48样

肌酸激酶（Creatine Kinase，CK）测定试剂盒说明书

紫外分光光度法

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。

产品内容：

种类	试剂规格	储存条件	使用方法及注意事项
提取液	液体60mL×1 瓶	4℃保存	–
试剂一	粉剂1 瓶	4℃避光保存	使用前加15mL 蒸馏水溶解
试剂二	液体15mL×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			

产品说明：

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 之间的转磷酰基反应，在能量运转、肌肉收缩和ATP 再生中有重要作用，是临床诊断心脑疾病的一个重要指标。 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。

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、1 mL 石英比色皿和蒸馏水。

操作步骤：

一、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，取上清，置冰上待测。
2. 血清样本：直接测定。

二、测定操作表

	空白管	测定管
酶液（μ L）		200
工作液（μ L）	500	500
H20（μ L）	500	300
混匀，于1mL 石英比色皿，对照管调零，测定340nm 的初始值A1，测定完立即放入37℃水浴，准确计时，分别测定1min，2min，3min 时的吸光值A2，计算时取平均值，△A= A2-A1。		

注意：空白管只需测定一次。

三、CK 活性计算公式

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。

CK 活性（nmol/min / mg prot）=△A ÷（ ×d）×V 反总÷(V 样×Cpr)= 804×△A÷Cpr

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。

CK 活性（nmol/min /g）= △A ÷（ ×d）×V 反总÷(V 样÷V 样总×W)= 804×△A÷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。

CK 活性（nmol/min /L）= △A ÷（ ×d）×V 反总÷V 样×1000= 804000×△A

：NADPH 微摩尔消光系数，6.22×10^{-3} L/μmol/cm；d：比色皿光径，1cm；V 反总：反应体系总体积，1mL；V 样：反应体系中样本体积，0.2mL；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℃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。