

## 肌酸激酶 (CK) 活性检测试剂盒 (分光光度计法)

(本试剂盒仅供科研使用)

### 产品包装

产品编号	产品名称	产品规格
YFX0240	肌酸激酶 (CK) 活性检测试剂盒-分光光度计法	50 管/48 样

### 产品内容

名称	规格	储存条件
提取液	液体 60mL×1 瓶	4°C
试剂一	粉剂×1 瓶, 使用前加 15mL 蒸馏水溶解。	4°C, 避光
试剂二	液体 15mL×1 瓶	4°C
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°C 温育 2min.	

### 一、产品说明

肌酸激酶 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。

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。

### 二、自备材料

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。

### 三、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°C,离心 15min,取上清,置冰上待测。

2、血清样本:直接测定。

### 四、操作步骤

正式测定前,必需取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定

1、分光光度计或酶标仪预热 30min 以上,调节波长至 340nm,蒸馏水调零。

2、加样表(使用 EP 管)

试剂名称(μL)	空白管	测定管
粗酶液		200
工作液	500	500
蒸馏水	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°C 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,  $\Delta A = A2 - A1$ 。

## 五、CK 活性的计算

### 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。

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

### 2、按组织样本质量计算

酶活定义: 37°C, 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) =  $\Delta A \div (\epsilon \times d) \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times W) = 804 \times \Delta A \div W$

### 3、按血清体积计算

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。

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

$\epsilon$ : NADPH 微摩尔消光系数,  $6.22 \times 10^{-3} \text{ L} / \mu \text{ mol/cm}$ ;  $d$ : 比色皿光径, 1cm;  $V_{\text{反总}}$ : 反应体系总体积, 1mL;  $V_{\text{样}}$ : 反应体系中样本体积, 0.2mL;  $C_{\text{pr}}$ : 样本蛋白浓度, mg/mL;  $W$ : 样本质量, g。

## 六、注意事项

- 1、空白管只需测定一次。
- 2、配制好的工作液 4°C 稳定 7 天, 请尽量配制后尽快使用。
- 3、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。
- 4、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。
- 5、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。