肌酸激酶（Creatine Kinase, CK）测定试剂盒说明书

（货号：G0855F 分光法 24 样）

一、产品简介：

肌酸激酶（CK，EC 2.7.3.2）主要存在于心脏、肌肉及脑等组织中，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。

CK 催化磷酸肌酸和 ADP 生成肌酸和 ATP，通过添加的己糖激酶与 6-磷酸葡萄糖脱氢酶复合体，依次催化 ATP 的水解与并伴随着 NADPH 的生成，通过检测 NADPH 在 340nm 处吸光值的增加即可得出 CK 酶活性的大小。

二、试剂盒的组成和配制：

试剂名称	规格	保存要求	备注
提取液	液体 60mL×1 瓶	4℃保存	
试剂一	粉剂×1 支	4℃保存	临用前甩几下，使粉剂落到底部，再加 1.1mL 蒸馏水充分溶解。
试剂二	粉剂×1 支	-20℃保存	临用前甩几下，使粉剂落到底部，再加 1.1mL 蒸馏水充分溶解。
试剂三	粉剂×1 支	4℃保存	临用前甩几下，使粉剂落到底部，再加 1.1mL 蒸馏水充分溶解。

三、所需的仪器和用品：

紫外分光光度计、1mL 石英比色皿（光径 1cm）、低温离心机、可调式移液器、恒温培养箱、研钵。

四、肌酸激酶（CK）活性测定：

建议正式实验前选取 2 个样本做预测定，了解本批样品情况，熟悉实验流程，避免实验样本和试剂浪费！

1、样本制备：

① 组织样本：

称取约 0.1g 组织，加入 1mL 提取液，进行冰浴匀浆，转移至 EP 管中，12000rpm, 4℃离心 10min，取上清，置冰上待测。

【注】：若增加样本量，可按照组织质量（g）：提取液(mL)为 1：5~10 的比例进行提取

② 细菌/细胞样本：

先收集细菌或细胞到离心管内，离心后弃上清；取约 500 万细菌或细胞加入 1mL 提取液，超声波破碎细菌或细胞（冰浴，功率 200W，超声 3s，间隔 10s，重复 30 次）；12000rpm 4℃离心 10min，取上清，置冰上待测。

【注】：若增加样本量，可按照细菌/细胞数量（10^4）：提取液(mL)为 500~1000：1 的比例进行提取。

③ 液体样本：直接检测；若浑浊则离心后取上清检测。

2、上机检测：

① 紫外分光光度计预热 30min，设定温度至 37℃，调节波长至 340nm，蒸馏水调零。

② 所有试剂可预先在 37℃条件下预温 5min。

③ 在 1mL 石英比色皿中依次加入：

试剂名称（μL）	测定管	对照管
样本	30	30
试剂一	20	20
试剂二	20	20
试剂三	20	

提取液	630	650
混匀，37℃条件下反应 15min，立即于 340nm 处读取各管 A 值，△A= A 测定-A 对照（每个样本做一个自身对照）。		

【注】1.若 A 测定大于 1.5，则可减少反应时间 T（如减至 10min），或减少样本加样量 V1（如减至 10μL, 则提取液相应增加）,则改变后的反应时间 T 和样本体积 V1 需代入计算公式重新计算。

2.若△A 的值在零附近徘徊，则可增大样本体积 V1（如增至 50μL 或更多，则提取液相应减少），或延长反应时间 T（如增至 30min 或更长），则改变后的反应时间 T 和样本体积 V1 需代入计算公式重新计算。

五、结果计算：

1、按组织蛋白含量计算：

酶活定义：37℃条件下，每毫克蛋白质在每分钟内催化产生 1nmoLNADPH 为一个酶活单位。

CK 活性(nmoL/min/mg prot)=[ΔA÷(ε×d)×V2×10^9]÷(V1×Cpr)÷T=257.2×ΔA÷Cpr

2、按组织样本质量计算：

酶活定义：37℃条件下，每克样品在每分钟内催化产生 1nmoLNADPH 为一个酶活单位。

CK 活性(nmoL/min/g 鲜重)=[ΔA÷(ε×d)×V2×10^9]÷(V1÷V×W)÷T=257.2×ΔA÷W

3、按细胞数量计算：

酶活定义：37℃条件下，每 10^4 个细胞每分钟内催化产生 1nmoLNADPH 为一个酶活单位。

CK 活性(nmoL/min/10^4 cell)=[(ΔA÷(ε×d)×V2×10^9]÷(500×V1÷V)÷T=0.52×ΔA

4、按血清计算：

酶活定义：37℃条件下，每毫升液体在每分钟内催化产生 1nmoLNADPH 为一个酶活单位。

CK 活性(nmoL/min/L)=[ΔA÷(ε×d)×V2×10^9]÷V1÷T=257.2×ΔA

V---加入提取液体积，1 mL； V1---加入样本体积，0.03mL；

V2---反应体系总体积，7.2×10^{-4} L； d---光径，1cm；

ε---NADPH 摩尔消光系数，6.22×10^3 L/moL/cm；

W---样本质量，g； T---反应时间，15min；

Cpr---蛋白浓度（mg/mL），建议使用本公司的 BCA 蛋白含量测定试剂盒。