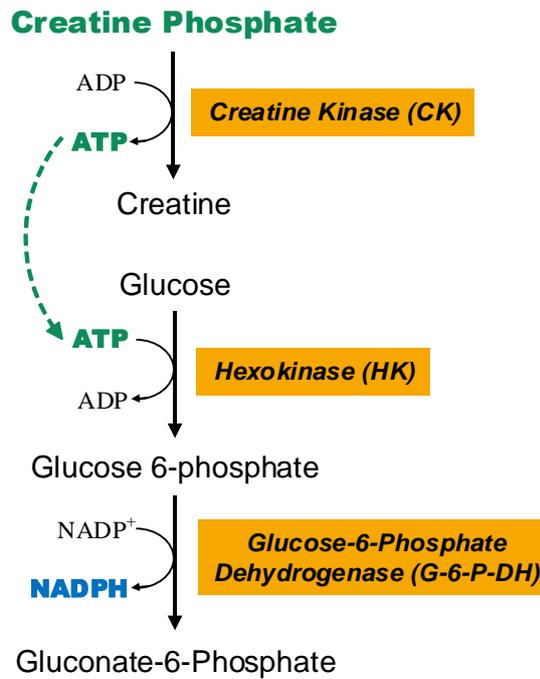




肌酸激酶 (CK) 活性检测试剂盒  
Creatine Kinase (CK) Activity Assay Kit



北京盒子生工科技有限公司  
Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.



## 肌酸激酶 (CK) 活性检测试剂盒

### Creatine Kinase (CK) Activity Assay Kit

#### 一、产品描述

肌酸激酶 (CK) 主要存在于心脏、肌肉以及脑等组织中, 可逆地催化肌酸与 ATP 之间的转磷酸基反应, 是一个与细胞能量运转、肌肉收缩、ATP 再生等有直接关系的重要激酶。

肌酸激酶能够催化磷酸肌酸和 ADP 生成肌酸和 ATP, 己糖激酶 (Hexokinase) 催化 ATP 和葡萄糖合成 6-磷酸葡萄糖, 6-磷酸葡萄糖脱氢酶进一步催化 6-磷酸葡萄糖脱氢生成 NADPH, NADPH 在 340 nm 有特征吸收峰, 通过测定 340 nm 处吸光值变化即可表征肌酸激酶的活性。

#### 二、产品内容

名称	试剂规格	储存条件	使用说明及注意事项
提取液	液体 110 mL×1 瓶	4°C保存	-
试剂一	粉剂×1 瓶	-20°C保存	使用前加入 5 mL 蒸馏水充分溶解 (可分装后-20°C保存, 避免反复冻融)
试剂二	粉剂×1 支	-20°C保存	使用前加入 500 μL 蒸馏水充分溶解 (可分装后-20°C保存, 避免反复冻融)
试剂三	粉剂×1 支	-20°C保存	使用前加入 500 μL 蒸馏水充分溶解 (可分装后-20°C保存, 避免反复冻融)
试剂四	粉剂×1 支	-20°C保存	使用前加入 650 μL 蒸馏水充分溶解 (可分装后-20°C保存, 避免反复冻融)
试剂五	液体 5 mL×1 瓶	4°C保存	-
CK 工作液 (现用现配): 根据使用量按试剂一: 试剂二: 试剂三: 试剂四: 试剂五 =70:4:7:10:90 的体积比充分混合 (配置后室温放置 20 min 再进行使用)。			

#### 三、产品使用说明

测定过程中所需要的仪器和试剂: 紫外分光光度计/酶标仪、微量石英比色皿 (光径 10 mm) /96 孔 UV 板、研钵/匀浆器、可调式移液器/多道移液器、台式离心机、恒温水浴/培养箱和蒸馏水。

##### 1. 粗酶液的制备 (可根据预实验结果适当调整样本量及比例)

①组织: 按照组织质量 (g): 提取液体积 (mL) 为 1: (5-10) 的比例 (建议称取 0.1 g 组织, 加入 1 mL 提取液) 处理样品, 冰浴匀浆, 4°C 10000 g 离心 15 min, 取上清置于冰上待测。

②细菌或细胞:离心收集细菌或细胞至离心管内,按照细菌或细胞数量( $10^4$ 个):提取液体积(mL)为(500-1000):1的比例(建议500万个细菌或细胞加入1 mL提取液)处理样品,冰浴超声破碎(功率300 W,超声3 s,间隔7 s,总时间3 min), $4^{\circ}\text{C}$  10000 g离心15 min,取上清置于冰上待测。

③血清、培养液等液体样本:直接测定或适当稀释后再进行测定。注:血清中肌酸激酶不稳定,采集样本后应尽快测定, $4^{\circ}\text{C}$ 避光保存可稳定24 h。

## 2.测定步骤

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

②在96孔板或微量石英比色皿中依次加入下列试剂:

试剂	测定组 ( $\mu\text{L}$ )	空白组 ( $\mu\text{L}$ )
CK工作液	90	90
蒸馏水	70	110
粗酶液	40	-

吸光值测定:①充分混匀并立即开始计时,测定10 s(总时间)时340 nm处吸光值,记为A1测定和A1空白;② $37^{\circ}\text{C}$ 恒温准确反应180 s,测定190 s(总时间)时340 nm处吸光值,记为A2测定和A2空白;③计算 $\Delta A$ 测定=A2测定-A1测定, $\Delta A$ 空白=A2空白-A1空白, $\Delta A = \Delta A$ 测定- $\Delta A$ 空白。  
注:空白组只需测定1-2次。

## 3.肌酸激酶(CK)活性计算

### 3.1 使用96孔UV板测定的计算公式

①按组织蛋白浓度计算

$37^{\circ}\text{C}$  pH=7.0条件下,每mg组织蛋白每分钟生成1 nmol NADPH定义为一个酶活力单位。

$$\text{CK (U/mg prot)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times 10^9}{\epsilon \times d_1 \times \text{Cpr} \times V_{\text{样}} \times T} = \frac{535.9 \times \Delta A}{\text{Cpr}}$$

②按组织样本质量计算

$37^{\circ}\text{C}$  pH=7.0条件下,每g组织样本每分钟生成1 nmol NADPH定义为一个酶活力单位。

$$\text{CK (U/g)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{样总}} \times 10^9}{\epsilon \times d_1 \times W \times V_{\text{样}} \times T} = \frac{535.9 \times \Delta A}{W}$$

③按细菌或细胞数量计算

$37^{\circ}\text{C}$  pH=7.0条件下,每 $10^4$ 个细胞每分钟生成1 nmol NADPH定义为一个酶活力单位。

$$\text{CK (U/10}^4 \text{ cell)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{样总}} \times 10^9}{\epsilon \times d_1 \times \text{细菌或细胞数量} \times V_{\text{样}} \times T} = \frac{535.9 \times \Delta A}{\text{细菌或细胞数量}}$$

#### ④按液体样本体积计算

37°C pH=7.0 条件下，每 mL 液体样本每分钟生成 1 nmol NADPH 定义为一个酶活力单位。

$$CK (U/mL) = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times 10^9}{\epsilon \times d_1 \times V_{\text{样}} \times T} = 535.9 \times \Delta A$$

### 3.2 使用微量石英比色皿测定的计算公式

#### ①按组织蛋白浓度计算

37°C pH=7.0 条件下，每 mg 组织蛋白每分钟生成 1 nmol NADPH 定义为一个酶活力单位。

$$CK (U/mg \text{ prot}) = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times 10^9}{\epsilon \times d_2 \times Cpr \times V_{\text{样}} \times T} = \frac{268 \times \Delta A}{Cpr}$$

#### ②按组织样本质量计算

37°C pH=7.0 条件下，每 g 组织样本每分钟生成 1 nmol NADPH 定义为一个酶活力单位。

$$CK (U/g) = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{样总}} \times 10^9}{\epsilon \times d_2 \times W \times V_{\text{样}} \times T} = \frac{268 \times \Delta A}{W}$$

#### ③按细菌或细胞数量计算

37°C pH=7.0 条件下，每  $10^4$  个细胞每分钟生成 1 nmol NADPH 定义为一个酶活力单位。

$$CK (U/10^4 \text{ cell}) = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{样总}} \times 10^9}{\epsilon \times d_2 \times \text{细菌或细胞数量} \times V_{\text{样}} \times T} = \frac{268 \times \Delta A}{\text{细菌或细胞数量}}$$

#### ④按液体样本体积计算

37°C pH=7.0 条件下，每 mL 液体样本每分钟生成 1 nmol NADPH 定义为一个酶活力单位。

$$CK (U/mL) = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times 10^9}{\epsilon \times d_2 \times V_{\text{样}} \times T} = 268 \times \Delta A$$

**注释：** V 样：反应体系中加入粗酶液的体积，0.04 mL；V 样总：粗酶液总体积，1 mL；V 反总：反应体系总体积， $200 \mu\text{L} = 2 \times 10^{-4} \text{ L}$ ； $\epsilon$ ：NADPH 的摩尔消光系数， $6.22 \times 10^3 \text{ L/mol/cm}$ ； $d_1$ ：96 孔 UV 板光径，0.5 cm； $d_2$ ：微量石英比色皿光径，1 cm；Cpr：样本蛋白浓度，mg/mL；W：样本质量，g；细菌或细胞数量：以万计；T：反应时间，180 s=3 min； $10^9$ ：单位换算系数，1 mol= $10^9$  nmol。

### 四、注意事项

- ①若测定吸光值大于 0.6 建议将粗酶液使用提取液适当稀释后再进行测定，计算时相应修改；
- ②准确在 10 s 和 190 s 处完成读数，以保证实验结果的准确性，若使用 96 孔 UV 板应使用多道移液器且分批进行测定，以确保组间反应时间一致；
- ③为保证结果准确且避免试剂损失，测定前请仔细阅读说明书（以实际收到说明书内容为准），确认试剂储存和准备是否充分，操作步骤是否清楚，且务必取 2-3 个预期差异较大的样本进行预测定，过程中问题请您及时与工作人员联系。

