

肌酸激酶(CK)试剂盒

- 【产品简介】 ◆肌酸激酶(CK, EC2. 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之间的转磷酸基反应, 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。

【货号】 TMC018

【规格】 96T

【包装清单】

试剂名称	规格	保存条件	
提取液	液体100mL×1瓶	4℃	
试剂一	粉剂mg×1支	4℃	临用前甩几下或离心, 使粉剂落入底部, 再加1.1mL蒸馏水备用。
试剂二	粉剂mg×1支	-20℃	临用前甩几下或离心, 使粉剂落入底部, 再加1.1mL蒸馏水备用。
试剂三	液体16mL×1瓶	4℃	
试剂四	粉剂mg×4支	4℃	临用前甩几下或离心, 使粉剂落入底部, 再加0.3mL蒸馏水备用。

【保存条件】 4℃保存, 有效期一年。

【操作步骤】 1、样本制备:

①组织样本:

称取约0.1g组织加入研钵中, 加入1mL提取液, 进行冰浴匀浆, 12000rpm, 4℃离心10min, 取上清液, 置冰上待测。

注: 也可以按照组织质量(g):提取液体积(mL)为1:5~10的比例提取。

②细菌/真菌样本:

先收集细菌或细胞到离心管内, 离心弃上清; 取500万细菌或细胞加入1mL提取液; 冰浴超声波破碎细菌或细胞(冰浴, 功率20%或200W, 超声3S, 间隔10S, 重复30次); 12000rpm, 4℃离心10min, 取上清液, 置冰上待测。

注: 也可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酶标仪预热30min以上，设定温度至37℃，调节波长到340nm。

②所有试剂可预先在37℃条件下预温5min，在96孔板中依次加入：

试剂名称 (uL)	测定管
样本	20
试剂一	10
试剂二	10
试剂三	150
混匀，37℃下孵育20min后	
试剂四	10
混匀，37℃条件下，立即于340nm处读取 A1，15min后读取A2， $\Delta A = A2 - A1$ 。	

3、结果计算:

①按组织蛋白含量计算:

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

$$\text{CK活性 (nmol/min/mg prot)} = [\Delta A \div (\epsilon \times d) \times V2 \times 10^9] \div (V1 \times \text{Cpr}) \div T$$

$$= 214.4 \times \Delta A \div \text{Cpr}$$

②按组织样本质量计算:

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

$$\text{CK活性 (nmol/min/g鲜重)} = [\Delta A \div (\epsilon \times d) \times V2 \times 10^9] \div (V1 \div V \times W) \div T$$

$$= 214.4 \times \Delta A \div W$$

③按细胞数量计算:

定义:37℃条件下，每10⁴个细胞每分钟内催化产生1nmol NADPH为一个酶活单位。

$$\text{CK活性 (nmol/min/10}^4\text{cell)} = [(\Delta A \div (\epsilon \times d) \times V2 \times 10^9) \div (500 \times V1 \div V) \div T$$

$$= 0.43 \times \Delta A$$

④按液体体积计算:

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

$$\text{CK活性 (nmol/min/mL)} = [\Delta A \div (\epsilon \times d) \times V2 \times 10^9] \div V1 \div T = 214.4 \times \Delta A$$

V--加入提取液体积, 1 mL;

V1--加入样本体积, 0.02mL;

V2--反应体系总体积, 2×10⁻⁴ L; d--96 孔板光径, 0.5cm;

ϵ --NADPH 摩尔消光系数, 6.22×10³L/mol/cm;

W--样本质量, g;

T--反应时间, 15min;

Cpr--蛋白浓度 (mg/mL)。

- 【注意事项】**
- 1、本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品。
 - 2、为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。
-