

## 肌酸激酶 (Creatine Kinase, CK) 测定试剂盒说明书

分光光度法 50 管/48 样

**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。

### 测定意义

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。

### 测定原理

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。

### 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。

### 试剂组成和配制

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。

### 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。

### 测定操作表

	空白管	测定管
酶液 (μL)		200
工作液 (μL)	500	500
H <sub>2</sub> O (μL)	500	300
混匀，于 1mL 石英比色皿，对照管调零，测定 340nm 的初始值 A <sub>1</sub> ，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 A <sub>2</sub> ，计算时取平均值，ΔA = A <sub>2</sub> - A <sub>1</sub> 。		

**注意：**空白管只需测定一次。

### 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。

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

#### 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。

$$\text{CK 活性 (nmol/min / g 鲜重)} = \frac{\Delta A}{\epsilon \times d} \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times W) = 804 \times \Delta A \div W$$

#### 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。

订购电话：0512- 62956165

技术支持：18112525205

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

$\varepsilon$ : NADPH 微摩尔消光系数,  $6.22 \times 10^{-3}$  L/ $\mu\text{mol}/\text{cm}$ ;  $d$ : 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

#### 注意事项

1. 配制好的工作液 4°C 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°C 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。