

肌酸激酶（CK）活性检测试剂盒说明书

微量法

货号：BC1145

规格：100T/96S

产品组成：使用前请认真核对试剂体积与瓶内体积是否一致，有疑问请及时联系索莱宝工作人员。

试剂名称	规格	保存条件
提取液	液体 110 mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂一	粉剂×1 瓶	-20℃保存
试剂二	粉剂×1 支	-20℃保存
试剂三	粉剂×1 支	-20℃保存
试剂四	粉剂×1 支	-20℃保存
试剂五	液体 5 mL×1 瓶	2-8℃保存

溶液的配制：

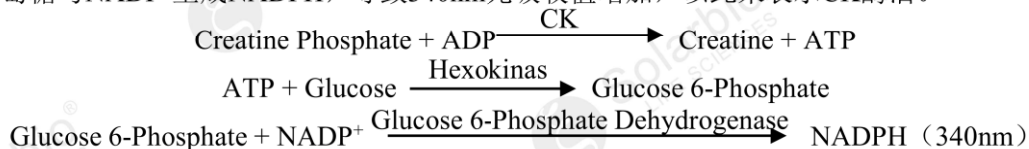
- 1、试剂一：临用前加 5 mL 蒸馏水溶解；用不完的分装后-20℃保存，禁止反复冻融；
- 2、试剂二：临用前加入 0.5 mL 蒸馏水溶解；用不完的分装后-20℃保存，禁止反复冻融；
- 3、试剂三：临用前加入 0.5 mL 蒸馏水溶解；用不完的分装后-20℃保存，禁止反复冻融；
- 4、试剂四：临用前加入 0.65 mL 蒸馏水溶解；用不完的分装后-20℃保存，禁止反复冻融；
- 5、工作液：临用前根据用量将试剂一、试剂二、试剂三、试剂四、试剂五以 70:4:7:10:90 的比例混合（体积比）。现用现配。使用前室温孵育 20min（该步骤不可省略）。

注：试剂二、试剂三、试剂四为冻干试剂，可能存在不同批次、不同瓶间肉眼观察试剂量相差较大甚至量很少的现象，此现象不影响使用，实际质量相同。

产品说明：

肌酸激酶（Creatine Kinase, CK）（EC 2.7.3.2）也成为肌酸磷酸激酶，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，是一个与细胞能量运转、肌肉收缩、ATP再生有直接关系的重要激酶。

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⁺生成NADPH，导致340nm光吸收值增加，以此来表示CK酶活。



注意：实验之前建议选择 2-3 个预期差异大的样本做预实验。

需自备的仪器和用品：

天平、低温离心机、恒温水浴锅、紫外分光光度计/酶标仪、微量石英比色皿/96孔UV板、恒温水浴锅、研钵/匀浆器、蒸馏水。





操作步骤:

一、样本处理（可适当调整待测样本量，具体比例可以参考文献）

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10min，取上清，置冰上待测。
2. 血清样本：直接测定。
3. 细胞样本：按照细胞数量（10⁴个）：提取液体积（mL）为500~1000：1的比例（建议500万细胞加入1mL提取液）加入提取液，冰浴超声波破碎细胞（功率300w，超声3秒，间隔7秒，总时间3min）；然后于4℃，10000g离心10min，取上清待测。

二、测定步骤

- 1、分光光度计/酶标仪预热30min以上，调节波长至340nm，用蒸馏水调零。
- 2、操作表：在微量石英比色皿/96孔UV板中加入下列试剂

	空白管	测定管
样本（μL）		40
工作液（μL）	90	90
H ₂ O（μL）	110	70

在微量石英比色皿/96孔UV板中分别加入上述试剂，充分混匀后于340nm处测定10s时的吸光值A₁，迅速置于37℃水浴或者培养箱3min（有控温功能的酶标仪可以设置温度为37℃），拿出迅速擦干测定190s时的吸光值A₂，计算ΔA测定管=A₂测定-A₁测定，ΔA空白管=A₂空白-A₁空白，ΔA=ΔA测定管-ΔA空白管。（空白管只需做1-2次）

三、CK 活性计算

1、按微量石英比色皿计算

(1) 按组织蛋白浓度计算：

酶活定义：37℃，pH7.0时，每毫克蛋白质每分钟催化产生1nmol NADPH为一个酶活单位。

$$\text{CK活性 (U/mg prot)} = \Delta A \div (\epsilon \times d) \times V_{\text{反总}} \times 10^9 \div (V_{\text{样}} \times C_{\text{pr}}) \div T = 268 \times \Delta A \div C_{\text{pr}}$$

(2) 按组织样本质量计算：

酶活定义：37℃，pH7.0时，每克样本每分钟催化产生1nmol NADPH为一个酶活单位。

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

(3) 按血清体积计算：

酶活定义：37℃，pH7.0时，每mL血清每分钟催化产生1nmol NADPH为一个酶活单位。

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

(4) 按细胞数量计算：

酶活定义：37℃，pH7.0时，每1万个细胞每分钟催化产生1nmol NADPH为一个酶活单位。

$$\text{CK活性 (U/10}^4 \text{ cell)} = \Delta A \div (\epsilon \times d) \times V_{\text{反总}} \times 10^9 \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times \text{细胞数量}) \div T = 268 \times \Delta A \div \text{细胞数量}$$

ε：NADPH的摩尔消光系数，6.22×10³L/mol/cm；d：微量石英比色皿光径，1cm；V_{反总}：反应体系总体积，2×10⁻⁴L；V_样：反应体系中样本体积，0.04mL；V_{样总}：提取液体积，1mL；C_{pr}：样本蛋白浓度，mg/mL；W：样本质量，g；细胞数量：以10⁴为单位计算，万个；T：反应时间，3min；10⁹：单位换算系数，1mol=10⁹nmol。

2、按96孔UV板计算

将上述公式中的d=1cm改为0.6cm（96孔UV板光径）进行计算即可。



注意事项:

1. 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。
2. 样本蛋白质含量需要另外测定。
3. OD 值大于 0.6 可用提取液适当稀释样本, 并在计算公式中相应的改变稀释倍数。
4. ΔA 空白管一般不超过 0.01。

实验实例:

- 1、取0.1g小鼠脑加入1mL提取液进行匀浆研磨, 取上清后再用提取液稀释8倍, 之后按照测定步骤操作, 用微量石英比色皿测得计算 ΔA 测定管=A2测定-A1测定=0.4175-0.1314=0.2861, ΔA 空白管=A2空白-A1空白=0.1304-0.1256=0.0048, $\Delta A = \Delta A$ 测定管- ΔA 空白管=0.2861-0.0048=0.2813, 按组织样本质量计算得:
 CK 活性 (U/g 质量) = $268 \times \Delta A \div W \times 8$ (稀释倍数) = $268 \times 0.2813 \div 0.1 \times 8$ (稀释倍数) = 6031.072 U/g 质量。
- 2、取兔血清直接检测, 用微量石英比色皿测得计算 ΔA 测定管=A2测定-A1测定=0.5761-0.4649=0.1112, ΔA 空白管=A2空白-A1空白=0.1304-0.1256=0.0048, $\Delta A = \Delta A$ 测定管- ΔA 空白管=0.1112-0.0048=0.1064, 按血清体积计算得:
 CK 活性 (U/mL) = $268 \times \Delta A = 268 \times 0.1064 = 28.5152$ U/mL。

相关发表文献:

- [1] Lu X, Chen J, Huang L, Ou Y, Wu J, Guo Z, Zheng B. The Anti-Fatigue Effect of Glycoprotein from Hairtail Fish (*Trichiurus lepturus*) on BALB/c Mice. *Foods*. 2023 Mar 14;12(6):1245. doi: 10.3390/foods12061245. PMID: 36981171; PMCID: PMC10048760.
- [2] Liu S, Ren J, Liu S, Zhao X, Liu H, Zhou T, Wang X, Liu H, Tang L, Chen H. Resveratrol inhibits autophagy against myocardial ischemia-reperfusion injury through the DJ-1/MEKK1/JNK pathway. *Eur J Pharmacol*. 2023 Jul 15; 951:175748. doi: 10.1016/j.ejphar.2023.175748. Epub 2023 May 5. PMID: 37149277.
- [3] Xu G, Yuan Y, Luo P, Yang J, Zhou J, Zhu C, Jiang Q, Shu G. Acute Succinate Administration Increases Oxidative Phosphorylation and Skeletal Muscle Explosive Strength via SUCNR1. *Front Vet Sci*. 2022 Jan 14; 8:808863. doi: 10.3389/fvets.2021.808863. PMID: 35097053; PMCID: PMC8795363.
- [4] Dai ZH, Jiang ZM, Tu H, Mao L, Song GL, Yang ZB, Liu F, Ali Sheikh MS. miR-129 Attenuates Myocardial Ischemia Reperfusion Injury by Regulating the Expression of PTEN in Rats. *Biomed Res Int*. 2021 Aug 14; 2021:5535788. doi: 10.1155/2021/5535788. PMID: 34435045; PMCID: PMC8382530.
- [5] Luo Y, Chen J, Chen Y, Su Y, Wu X, Zheng W, Liu X, Chen L. Qishen Yiqi dropping pills improve isoproterenol-induced cardiomyocyte hypertrophy by regulating X-inactive specific transcript (XIST) expression in rats. *J Thorac Dis*. 2022 Jun;14(6):2213-2223. doi: 10.21037/jtd-22-606. PMID: 35813728; PMCID: PMC9264057.

相关系列产品:

- BC2030/ BC2035 异柠檬酸裂解酶 (ICL) 活性检测试剂盒
BC3170/ BC3175 乙酸激酶 (ACK) 活性检测试剂盒
BC3120/ BC3125 植物脱氢酶 (PDHA) 活性检测试剂盒
BC4220/ BC4225 4-香豆酸: 辅酶 A 连接酶 (4CL) 活性检测试剂盒

