

## 肌酸激酶（Creatine Kinase, CK）测定试剂盒说明书

微量法 100T/96S

**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，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、酶标仪、96 孔板和蒸馏水。

### 试剂组成和配制：

提取液：液体 100mL×1 瓶，4℃保存。

试剂一：粉剂 1 瓶，4℃避光保存，使用前加 10mL 蒸馏水溶解。

试剂二：液体 10mL×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。
2. 血清样本：直接测定。

### 测定操作表：

1. 酶标仪预热 30min，调节波长至 340nm。
2. 在 96 孔板中加入 40μL 样本和 60μL 蒸馏水，最后加入 100μL 工作液，立即混匀，37℃下测定初始吸光值 A1 与 1min 后的吸光值 A2， $\Delta A = A2 - A1$ 。

### 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。

$$\text{CK 活性 (nmol/min/ mg prot)} = \frac{\Delta A}{\epsilon \times d} \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \times C_{\text{pr}}) \div T = 1608 \times \Delta A \div C_{\text{pr}}$$

（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。

$$\text{CK 活性 (nmol/min/g 鲜重)} = \frac{\Delta A}{\epsilon \times d} \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times W) \div T = 1608 \times \Delta A \div W$$

(3) 按血清计算:

酶活定义: 37°C, pH7.0 时, 每升血清 1min 内催化产生 1nmol NADPH 为一个酶活单位。

$$\text{CK 活性 (nmol/min/mL)} = \frac{\Delta A}{\varepsilon \times d} \times V_{\text{反总}} \div V_{\text{样}} \div T = 1608 \times \Delta A$$

$\varepsilon$ : NADPH 摩尔消光系数, 6220 L/mol/cm;  $d$ : 96 孔板光径, 0.5cm;  $V_{\text{反总}}$ : 反应体系总体积, 0.2mL;  
 $V_{\text{样}}$ : 反应体系中样本体积, 0.04mL;  $T$ , 反应时间, 1min;  $C_{\text{pr}}$ : 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。