



肌酸含量(肌氨酸氧化酶法)检测试剂盒 96 样

规格：微量法 100 管/96 样

编号：TW56881

注意

正式测定前务必取 3 - 5 个预期差异较大的样本做预测定。

测定意义

肌酸(Creatine)是一种含氮化合物，自然存在于脊椎动物体内，能够辅助为肌肉和神经细胞提供能量。肌酸可由精氨酸 (arginine)、甘氨酸 (glycine) 及甲硫氨酸 (methionine) 三种氨基酸合成，可由人体自行合成，也可以从食物中摄取。肌酸补充剂是一种运动性能增强剂，也用于治疗肌肉和神经退行性等疾病，因此肌酸的检测在研究和开发中具有广泛的应用。

测定原理

肌酸在肌酸酶的作用下生成肌氨酸，肌氨酸在肌氨酸氧化酶的作用下生成过氧化氢，过氧化氢与显色剂反应呈现紫色，该有色物质在 546nm 有最大吸收峰，进而计算得到肌酐含量。

需自备的仪器和用品

可见分光光度计/酶标仪、水浴锅、可调式移液器、微量石英比色皿/96 孔板、研钵、蒸馏水。

试剂的组成和配制

提取液 A：110mLx1 瓶，4°C避光保存；

提取液 B：60mLx1 瓶，4°C保存；



试剂一：20mL×1 瓶，-20℃避光保存；

标准品：粉剂 x1 瓶，4℃避光保存，使用前甩几下使粉剂落入底部，再加 1mL 蒸馏水充分溶解即标准品浓度为 1mg/mL，再用蒸馏水稀释 40 倍(1:39 份水)成 0.025mg/mL，即 190.65 μ mol/L 的肌酸标准品待测液；

(提取液 A 和提取液 B 有腐蚀性，操作时注意佩戴手套)

样品提取

一、组织样本的处理：

1、按照质量(g)：提取液 A 体积(mL)为 1：5~10 的比例加入提取液，冰浴匀浆；

(建议先尝试 0.2g：1mL 的比例；样本含量较低的可增加样本量；样本量较少时可等比例减少样本与提取液)

2、然后 12,000g 离心力 10℃ 离心 10min，取上清液；

(动物样本可能会有飘浮在上层的脂肪，注意不要吸取到)

3、取 300 μ L 上清液，滴加提取液 B 300 μ L；

(加入后会有白色沉淀产生为正常现象；)

4、然后 12,000g 离心力 10℃ 离心 5min，取上清液待测 (记为样本待测液)；

二、液体样本处理：澄清的液体可直接检测；若浑浊则离心后取上清液检测；

测定步骤

1、分光光度计或酶标仪预热 30min 以上，设置温度再 37℃，调节波长至 546nm。

2、在 EP 管中加入下列试剂：

试剂(μ L)	测定管	空白管(只做一管)	标准管(只做一管)
样本	10		
蒸馏水		10	



标准品			10
试剂一	190	190	190
混匀，546nm 处测定吸光值 A137°C 孵育 15min 后于 546nm 处读取吸光值 A2Δ $A=A2-A1$			

注意

1. 如果ΔA 大于 1，需要将样本用蒸馏水稀释，计算公式中乘以相应稀释倍数。
2. 如果ΔA 的值小于 0.01，可增加样本加样体积 V1(如由 10uL 增至 20uL 或更多，则试剂二相应减少，空白管和标准管变化同测定管)，或增加样本取样质量 W；则改变后的 V1 和 W 需带入公式重新计算。

结果计算

1、按样本质量计算：

$$\text{肌酸含量(nmol/g)} = (C \text{ 标准} \times V2) \times (\Delta A \text{ 测定} - \Delta A \text{ 空白}) \div (\Delta A \text{ 标准} - \Delta A \text{ 空白}) \div (V1 \div V \times W) \times$$

$$D = 381.3 \times (\Delta A \text{ 测定} - \Delta A \text{ 空白}) \div (\Delta A \text{ 标准} - \Delta A \text{ 空白}) \div W \times D$$

2、按液体体积计算：

$$\text{肌酸含量(umol/L)} = (C \text{ 标准} \times V2) \times (\Delta A \text{ 测定} - \Delta A \text{ 空白}) \div (\Delta A \text{ 标准} - \Delta A \text{ 空白}) \div V1 \times D$$

$$= 190.65 \times (\Delta A \text{ 测定} - \Delta A \text{ 空白}) \div (\Delta A \text{ 标准} - \Delta A \text{ 空白}) \times D$$

V：加入提取液体积，2 mL； D：稀释倍数，未稀释为 1；

V1：加入样本体积，0.01mL； W：样本质量，g；

V2：加入标准品体积，0.01mL；

C 标准：肌酸标准品，0.025mg/mL=190.65umol/L=190.65nmol/mL；



预实验的意义

比色法检测试剂盒预实验非常重要

- 1、确定该试剂盒是否适合客户的样本检测，以免造成试剂盒和样本的浪费（比如低表达处理的样本）；
- 2、熟悉生化试剂盒的操作流程，尤其是初次使用生化试剂盒测定；
- 3、确定样本的处理方法及稀释倍数是否合适；
- 4、了解实验过程中可能出现的实验现象或问题，以便于及时作出调整；
- 5、通过 3 - 5 组预实验，判断试剂盒对于样本的最佳适应稀释浓度范围，指导实验样本稀释比例。