

Creatine Content Assay Kit

肌酸(Creatine)含量测定试剂盒(肌酸酶法)

产品编号	产品名称	规格
BL889A	肌酸(Creatine)含量测定试剂盒(肌酸酶法)	48T

产品简介:

肌酸(Creatine)是一种内源性化合物,其功能是通过肌酸激酶的磷酸化使机体维持高的ATP/ADP比率。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。大约95%的肌酸存在于骨骼肌中,主要存在形式为磷酸肌酸。肌酸作为一种补充剂主要通过增加肌肉质量,增强运动表现能力。肌酸也被作为神经肌肉疾病的一种治疗药被广泛研究,它可能有助于保护神经和改善细胞生物功能状态。因此肌酸的检测在研究和开发中具有广泛的应用。

本试剂盒利用肌酸酶特异作用于肌酸生成肌氨酸,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(粉)红色,该有色物质在520nm有最大吸收峰,进而计算得到肌酸含量。

产品组成:

试剂名称	规格	保存要求	备注
提取液	液体 60mL×1 瓶	4°C保存	
试剂一	液体 22mL×1 瓶	4°C保存	
试剂二	液体 15mL×1 瓶	4°C保存	
试剂三	粉末×1 支	-20°C保存	临用前甩几下使液体落入底部,再加 1.1mL 的蒸馏水溶解备用。
试剂四	粉末×1 支	-20°C保存	临用前甩几下使液体落入底部,再加 1.1mL 的蒸馏水溶解备用。
标准管	液体 1mL×1 支	4°C保存	临用前用蒸馏水稀释5倍,即0.2mg/mL肌酸溶液

使用方法:

建议正式实验前,选取2个样本做预测定,了解实验样品情况,熟悉流程,避免样本和试剂浪费!

一、样本准备:

1. 组织样本准备:

- 取约0.1g组织样本,加1mL的提取液研磨,粗提液全部转移到离心管中;
- 10000-12000g,常温离心10min,取上清液,置冰上待测。

2. 细菌/细胞样本:

- 先收集细菌或细胞到离心管内,离心后弃上清;
- 取约 5×10^6 个细菌或细胞加入1mL提取液,超声波破碎细菌或细胞(冰浴,功率200W,超声3s,间隔10s,重复30次);
- 10000-12000g,4°C离心10min,取上清,置冰上待测。

【注】:若增加样本量,可按照细菌/细胞数量(10⁴):提取液(mL)为500~1000:1的比例进行提取。

Note: For in vitro research use only, not for diagnostic or therapeutic use, This product is not a medical device.

注意:在体外研究使用,不用于诊断或治疗用途,本产品不是医疗装置。



3.液体样品:

澄清的液体可直接检测;若浑浊则离心后取上清液检测。

二、样品测定:

1. 可见分光光度计预热 30min, 设置温度在 37°C, 设定波长到 520nm, 蒸馏水调零。
2. 做实验前选取 2 个样本, 找出适合本次检测样本的稀释倍数 D。
3. 所有试剂解冻至室温, 在离心管中依次加入:

试剂名称 (μL)	测定管	空白管 (仅做一次)	标准管 (仅做一次)
样本	40	-	-
蒸馏水	-	40	-
标准品	-	-	40
试剂一	420	420	420
试剂二	300	300	300
试剂三	20	20	20
混匀, 37°C避光孵育 10min。			
试剂四	20	20	20
混匀, 37°C避光反应 30min, 全部液体转移至 1mL 玻璃比色皿中, 于 520nm 处读取吸光值 A (直到 A 值不变), $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}$ 。			

- 【注】:**
1. 测定管的 A 值若超过 1, 可把样本再进行稀释, 稀释倍数 D 代入计算公式。
 2. 若 ΔA 的值小于 0.005, 可增加样本加样体积 V1 (如由 40μL 增至 100μL, 则试剂一相应减少), 或增加样本取样质量 W; 则改变后的 V1 和 W 需代入公式重新计算。
 3. 若样本自身含有高的肌氨酸含量, 需增设一个样本自身对照:
(即 40μL 样本+440μL 试剂一+300μL 试剂二+20μL 试剂三), $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ 。

三、含量计算

1、按照质量计算:

$$\begin{aligned} \text{肌酸含量}(\mu\text{mol/g}) &= (C_{\text{标准}} \times V1) \times \Delta A \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \div (V1 \div V \times W) \times D \times 10^3 \div Mr \\ &= 1.53 \times \Delta A \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \times D \div W \end{aligned}$$

2、按细胞数量计算:

$$\begin{aligned} \text{肌酸含量}(\text{nmol}/10^4 \text{ cell}) &= (C_{\text{标准}} \times V1) \times \Delta A \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \div (V1 \div V \times 500) \times D \times 10^6 \div Mr \\ &= 3.05 \times \Delta A \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \times D \end{aligned}$$

3、按照体积计算:

$$\begin{aligned} \text{肌酸含量}(\mu\text{mol/L}) &= (C_{\text{标准}} \times V1) \times \Delta A \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \div V1 \times D \times 10^6 \div Mr \\ &= 1525.2 \times \Delta A \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \times D \end{aligned}$$

C 标准---标品浓度, 0.2mg/mL

V---提取液体积, 1mL

500---细胞数量, 百万

Mr---标准品分子量, 131.13

V1---加入样本体积, 0.04mL

D---稀释倍数, 未稀释即为 1

Note: For in vitro research use only, not for diagnostic or therapeutic use, This product is not a medical device.
注意: 在体外研究使用, 不用于诊断或治疗用途, 本产品不是医疗装置。





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。

有效期:

-20°C保存三个月。

Note: For in vitro research use only, not for diagnostic or therapeutic use, This product is not a medical device.
注意: 在体外研究使用, 不用于诊断或治疗用途, 本产品不是医疗装置。

电话: 400-600-4213

邮箱: techserv@labgic.com

