# ATG

产品说明书

**Version 23.1.1** 

# **Creatine amidinohydrolase**

**BC002** 

# 产品简介

Creatine +  $H_2O$   $\longrightarrow$  Sarcosine + Urea

## 技术指标

外观白色无定型冻干粉末蛋白纯度≥90%比活性≥6 U/mg 酶粉过氧化氢酶≤0.1%肌酐酶≤0.001%肌氨酸氧化酶≤0.001%NADH 氧化酶≤0.001%

# 酶学性质

| 来源           | 微生物,肌酸脒基水解酶                                |        |
|--------------|--|--------|
| 分类           | EC 3.5.3.3                                 |        |
| 分子量          | 48 kDa (SDS-PAGE)                          |        |
| 等电点          | 4.6  |        |
| <b>K</b> m 值 | $1.5 \times 10^{-2} \mathrm{M}$ (Creatine) |        |
| 抑制剂          | $Ag^{+}, Cu^{2+}, Hg^{2+}$                 |        |
| 最适 pH        | 7.5  | Fig. 1 |
| 最适温度         | 50°C                                       | Fig. 2 |
| pH 稳定性       | pH 4.5-10.0 (25°C, 16 h)                   | Fig. 3 |
| 热稳定性         | 50℃以下稳定 (pH 7.5, 30 min)                   | Fig. 4 |
| 稳定性          | -20℃静置保存 12 个月保持 90%以上活性                   | Fig. 5 |
| 保护剂          | 糖类物质                                       |        |

## 产品应用

用于酶法肌酐试剂的研发和大量配制。

## 产品性能

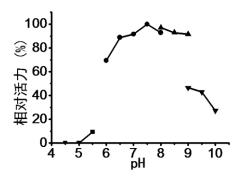


Fig. 1 最适 pH

50 mM Buffer solution: pH 4.5-5.5, acetate buffer; pH 6.0-8.0, Na-phosphate; pH8.0-9.0, Tris-HCl; pH 9.0-10.0, Glycine-NaOH.

Enzyme concentration: 1 mg/ml.

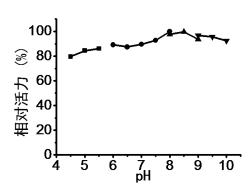


Fig. 3 pH 稳定性

25°C, 16 h-treatment with 50 mM buffer solution: pH 4.5-5.5, acetate buffer; pH 6.0-8.0, Na-phosphate; pH8.0-9.0, Tris-HCl; pH 9.0-10.0, Glycine-NaOH. Enzyme concentration: 1 mg/ml.

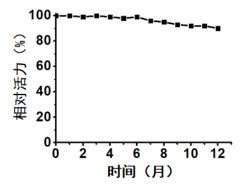


Fig. 5 稳定性 (-20℃保存)

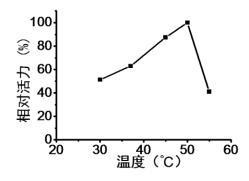


Fig. 2 最适温度

Reaction in 50 mM Na-phosphate buffer pH 7.5. Enzyme concentration: 1 mg/ml.

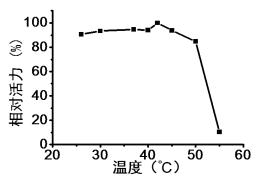


Fig. 4 热稳定性

30 min-treatment with 50 mM Na-phosphate buffer, pH 7.5. Enzyme concentration: 1 mg/ml.

## 活性测定方法

#### 原理:

$$Creatine + H_2O \xrightarrow{Creatine \ amidinohydrolase} Sarcosine + Urea \\ Urea + 2(CH_3)_2N \xrightarrow{\bigcirc} CHO \xrightarrow{} [(CH_3)_2N \xrightarrow{\bigcirc} C=N]_2CO + 2 H_2O$$

尿素 (Urea) 和 DAB (ρ-dimethylaminobenzaldenhyde) 反应形成的黄色染料的量可通过分光光度计在 435 nm 检测。

## 酶活定义

单位酶活定义为在下述条件下,每分钟将1 µmol肌酸完全转化为肌氨酸所需的酶量。

## 实验案例

#### 试剂准备:

试剂I: 0.1 M肌酸溶液

试剂II: 将2.0 g DAB溶解在100 ml二甲亚砜中, 并加入15 ml浓盐酸

酶稀释液: 50 mM PBS, pH 7.5

试剂III: 用酶稀释液将酶稀释至2.0-3.0 U/ml。

#### 操作步骤:

- 1. 取1 ml试剂I 于5 ml EP管中, 37℃预热5 min。
- 2. 加入试剂III 0.1 ml, 混匀。
- 3. 37℃水浴反应10 min后,加入2.0 ml试剂II 终止反应,并在25℃放置20 min。
- 4. 使用紫外分光光度计,测定反应液在435 nm处吸光度值。
- 5. 酶稀释液代替酶液作为空白对照。

#### 活力计算:

Volume activity (U/mL) = 
$$\frac{\Delta A \times 3.1 \times df}{0.321 \times 0.1 \times 10} = \Delta A \times 9.66 \times df$$
  
Weight activity (U/mg) = Volume activity × 1/C

3.1: 反应液总体积 (ml);

- 0.1: 酶液体积 (ml);
- 10: 反应时间 (min);
- df: 稀释倍数;
- C: 酶浓度 (mg/ml);
- 0.321: 黄色染料在435 nm处摩尔吸光系数 (cm²/μmol)。