

## 肌酐（CRE）含量（肌氨酸氧化酶法）检测试剂盒说明书

（货号：G1204W 微板法 96 样）

### 一、产品简介：

肌酐（Creatinine, CRE）是肌肉代谢的产物，主要通过肾小球滤过排出体外。在正常情况下，体内肌酐的含量基本稳定。血液中的肌酐浓度可作为检测肾小球滤过功能的指标之一。

本试剂盒利用肌酐酶特异作用于肌酐生成肌酸，肌酸在肌酸酶和肌氨酸氧化酶的相继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。

### 二、试剂盒组分与配制：

试剂名称	规格	保存要求	备注
试剂一	液体 18mL×1 瓶	4°C保存	
试剂二	液体 6mL×1 瓶	4°C保存	
标准管	粉体 2mg×1 支	4°C保存	使用前甩几下使粉体落入底部，再加1mL蒸馏水溶解即标准品浓度为2mg/mL，再用蒸馏水稀释40倍（1:39份水）成0.05mg/mL，即442μmol/L的肌酐标准品待检液。

### 三、所需仪器和用品：

酶标仪、96孔板、可调式移液器、离心机、蒸馏水。

### 四、肌酐含量检测：

建议正式实验前选取 2 个样本做预测定，了解本批样品和实验流程，避免实验样本和试剂浪费！

#### 1、样本制备：

- ① 组织样本：取约 0.1g 组织样本，加 1mL 的生理盐水或者常用 PBS 研磨，粗提液全部转移到 EP 管中，12000rpm，常温离心 10min，上清液待测。
- ② 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。

#### 2、上机检测：

- ① 酶标仪预热 30min，设置温度在 37°C，设定波长到 546nm。
- 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 96 孔板中依次加入：

试剂名称(μL)	测定管	空白管（仅做一次）	标准管（仅做一次）
样本	6		
蒸馏水		6	
标准品			6
试剂一	180	180	180
混匀，37°C 孵育 5min，于 546nm 处读取吸光值 A1。			
试剂二	60	60	60
混匀，37°C 孵育 5min 后于 546nm 处读取吸光值 A2， $\Delta A = A2 - A1$ 。			

【注】：1. 测定管的  $\Delta A$  大于 0.5，须用蒸馏水对样本进行稀释，稀释倍数 D 代入计算公式。

2. 若 $\Delta A$  的值小于 0.005, 可增加样本加样体积  $V_1$  (如由  $6\mu\text{L}$  增至  $10\mu\text{L}$  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  $V_1$  和  $W$  需代入公式重新计算。

## 五、结果计算:

### 1、按照质量计算:

$$\begin{aligned}\text{肌酐含量}(\text{nmol/g}) &= (\text{C 标准} \times V_2) \times (\Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div (\Delta A_{\text{标准}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div (V_1 \div V \times W) \times D \\ &= 442 \times (\Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div (\Delta A_{\text{标准}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div W \times D\end{aligned}$$

### 2、按照体积计算:

$$\begin{aligned}\text{肌酐含量}(\mu\text{mol/L}) &= (\text{C 标准} \times V_2) \times (\Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div (\Delta A_{\text{标准}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div V_1 \times D \\ &= 442 \times (\Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div (\Delta A_{\text{标准}} - \Delta A_{\text{空白}}) \times D\end{aligned}$$

C 标准---肌酐标品,  $0.05\text{mg/mL} = 442\mu\text{mol/L} = 442\text{nmol/mL}$ ; Mr---肌酐分子量, 113;

$V_1$ ---加入样本体积,  $0.006\text{mL}$ ;

$V_2$ ---加入标准品体积,  $0.006\text{mL}$ ;

V---提取液体积,  $1\text{mL}$ ;

W---质量, g;

D---稀释倍数, 未稀释即为 1。