

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℃保存	
试剂二	液体 6mL×1 瓶	4℃保存	
标准管	粉体 2mg×1 支	4℃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℃，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℃孵育 5min，于 546nm 处读取吸光值 A1。			
试剂二	60	60	60
混匀，37℃孵育 5min 后于 546nm 处读取吸光值 A2， $\Delta A=A2-A1$ 。			

【注】：1. 测定管的 ΔA 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 ΔA 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, $0.05\text{mg/mL} = 442\mu\text{mol/L} = 442\text{nmol/mL}$; M_r ---肌酐分子量, 113;

V_1 ---加入样本体积, 0.006mL ;

V_2 ---加入标准品体积, 0.006mL ;

V ---提取液体积, 1mL ;

W ---质量, g ;

D ---稀释倍数, 未稀释即为 1。