

## 肌酐（CRE）含量（肌氨酸氧化酶法）检测试剂盒说明书

（货号：ADS-W-FM034 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 | 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，了解本批样品情况，熟悉实验流程，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<br>(仅做一次) | 标准管<br>(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，<br>$\Delta A = A2 - A1$ 。 |    |    |    |

【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 V1（如由 6 $\mu$ L 增至 10 $\mu$ 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 V1 和 W 需代入公式重新计算。

## 五、结果计算：

### 1、按照质量计算：

$$\begin{aligned} \text{肌酐含量(nmol/g)} &= (C_{\text{标准}} \times V2) \times (\Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div (\Delta A_{\text{标准}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div (V1 \div V \times W) \times D \\ &= 442 \times (\Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div (\Delta A_{\text{标准}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div W \times D \end{aligned}$$

### 2、按照体积计算：

$$\begin{aligned} \text{肌酐含量}(\mu\text{mol/L}) &= (C_{\text{标准}} \times V2) \times (\Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div (\Delta A_{\text{标准}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div V1 \times D \\ &= 442 \times (\Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div (\Delta A_{\text{标准}} - \Delta A_{\text{空白}}) \times D \end{aligned}$$

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

V1---加入样本体积，0.006mL；

V2---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。