

肌酐（CRE）含量（肌氨酸氧化酶法）检测试剂盒说明书

（货号：ADS-F-FM034 分光法 48 样）

一、指标介绍：

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：

试剂组分	试剂规格	存放温度	注意事项
试剂一	液体 17.5mL×1 瓶	4℃避光保存	
试剂二	液体 6mL×1 瓶	4℃避光保存	
标准管	粉体 2mg×1 支	4℃避光保存	1. 临用前8000g 4℃离心2min使试剂落入管底； 2. 加1mL蒸馏水溶解即浓度为2mg/mL的标准品母液， 3. 再用蒸馏水稀释40倍（20μl母液+780μl水）成0.05mg/mL，即442μmol/L的肌酐标准品待检液。

三、实验器材：

研钵（匀浆机）、冰盒（制冰机）、台式离心机、可调式移液枪、水浴锅（烘箱、培养箱、金属浴）、1mL 玻璃比色皿（光径 1cm）、离心管、可见分光光度计、蒸馏水（去离子水、超纯水均可）。

四、指标测定：

建议先选取 1-3 个差异大的样本（例如不同类型或分组）进行预实验，熟悉操作流程，根据预实验结果确定或调整样本浓度，以防造成样本或试剂不必要的浪费！

1、样本提取：

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。

③ 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 500 万细菌或细胞加入 1mL 生理盐水或 PBS，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）；12000rpm 4℃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）：无水乙醇(mL)为 500~1000：1 的比例进行提取。

2、检测步骤：

① 打开可见分光光度计，设置温度 37℃（若仪器无法控温，则等待仪器过自检程序即可），调节

波长到 546nm，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 1mL 玻璃比色皿（光径 1cm）中依次加入：

试剂组分 (μL)	测定管	空白管 (仅做一次)	标准管 (仅做一次)
样本	30		
蒸馏水	200	230	200
标准品			30
试剂一	350	350	350
混匀，37°C 孵育 5min，于 546nm 处读取吸光值 A ₁ 。			
试剂二	120	120	120
混匀，37°C 孵育 5min 后于 546nm 处读取吸光值 A ₂ ， $\Delta A = A_2 - A_1$ 。			

【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 V₁（如由 30μL 增至 60μL 或更多，则试蒸馏水相应减少，空白管和标准管不变），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：

C 标准---肌酐标品，0.05mg/mL=442μmol/L=442nmol/mL；

V₁---加入样本体积，0.03mL；

V₂---加入标准品体积，0.03mL；

V---提取液体积，1mL；

Mr---肌酐分子量，113；

W---质量，g；

D---稀释倍数，未稀释即为 1。

1、按照质量计算：

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

2、按照蛋白浓度计算：

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

3、按照体积计算：

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

4、按照细胞数量计算：

$$\begin{aligned} \text{肌酐含量(μmol/10}^4 \text{ cell)} &= (C \text{ 标准} \times V_2) \times (\Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div (\Delta A_{\text{标准}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div (500 \times V_1 \div V) \times D \\ &= 0.884 \times (\Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div (\Delta A_{\text{标准}} - \Delta A_{\text{空白}}) \times D \end{aligned}$$

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

V₁---加入样本体积，0.03mL；

V₂---加入标准品体积，0.03mL；

V---提取液体积, 1mL;

500---细胞数量, 万

W---质量, g;

D---稀释倍数, 未稀释即为 1。

Cpr---上清液蛋白浓度, mg/mL, 建议使用本公司的 BCA 蛋白含量检测试剂盒。

