

## 肌酐（CRE）含量（肌氨酸氧化酶法）检测试剂盒说明书 （分光法 48 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 17.5mL×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：

可见分光光度计、1mL 玻璃比色皿（光径 1cm）、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 可见分光光度计预热 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 1mL 玻璃比色皿（光径 1cm）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	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 A1。			
试剂二	120	120	120
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 V1（如由 30 $\mu$ L 增至 60 $\mu$ L 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：

### 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、按照体积计算：

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

C 标准---肌酐标品，0.05mg/mL=442 $\mu$ mol/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。