

肌酐（CRE）含量（肌氨酸氧化酶法）检测试剂盒说明书

（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	用前用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℃，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°C 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 V1（如由 6 μ L 增至 10 μ 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：

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

2、按照体积计算：

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

C 标准---肌酐标品，0.05mg/mL=442 μ 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。