

## 肌酐含量(肌氨酸氧化酶法)检测试剂盒48样

规格：微量法 50管/48样

编号：JLC\_K14842

### 注意

正式测定前务必取 3 - 5 个预期差异较大的样本做预测定

### 测定意义

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。

### 测定原理

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。

### 需自备的仪器和用品

可见分光光度计/酶标仪、水浴锅、可调式移液器、微量石英比色皿/96孔板、研钵、蒸馏水。

### 试剂的组成和配制

试剂一：10mL×1瓶，-20℃避光保存；

试剂二：3.5mL×1瓶，-20℃避光保存；

标准品：粉剂×1瓶，4℃避光保存，使用前甩几下使粉剂落入底部，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的肌酐标准品待测液；

### 样品提取

1、**组织的处理**：按照组织质量 (g)：生理盐水或常用PBS体积(mL)为1：5~10的比例（建议称取约0.1g组织，加入1mL生理盐水），冰浴匀浆，转移到离心管中，离心10min (12000rpm, 25℃)，取上清供测定用。

2、**液体样本处理**：按澄清的液体可直接检测；若浑浊则离心后取上清液检测；

### 测定步骤

1、分光光度计或酶标仪预热30min以上，设置温度再37℃，调节波长至546nm。

2、在EP管中加入下列试剂：

试剂 (μL)	测定管	空白管(只做一管)	标准管(只做一管)
样本	6		
蒸馏水		6	
标准品			6
试剂一	180	180	180
混匀，37℃孵育5min后于546nm处读取吸光值A1			
剂二	60	60	60
混匀，37℃孵育15min后于546nm处读取吸光值A2 $\Delta A = A2 - A1$			

### 注意：

1. 如果 $\Delta A$ 大于0.8，需要将样本用蒸馏水稀释，计算公式中乘以相应稀释倍数。
2. 如果 $\Delta A$ 的值小于0.01，可增加样本加样体积V1(如由6μL增至20μL，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需带入公式重新计算。

### 结果计算

#### 1、按样本质量计算：

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

#### 2、按液体体积计算：

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

V: 加入提取液体积, 1 mL;

V1: 加入样本体积, 0.006mL;

V2: 加入标准品体积, 0.006mL;

D: 稀释倍数, 未稀释为1;

W: 样本质量, g;

C标准: 肌酐标准品,  $0.05\text{mg/mL}=442\mu\text{mol/L}=442\text{nmol/mL}$ ;

### 预实验的意义

#### 比色法检测试剂盒预实验非常重要

- 1、确定该试剂盒是否适合客户的样本检测, 以免造成试剂盒和样本的浪费 (比如低表达处理的样本) ;
- 2、熟悉生化试剂盒的操作流程, 尤其是初次使用生化试剂盒测定;
- 3、确定样本的处理方法及稀释倍数是否合适;
- 4、了解实验过程中可能出现的实验现象或问题, 以便于及时作出调整;
- 5、通过3 - 5组预实验, 判断试剂盒对于样本的适应稀释浓度范围, 指导实验样本稀释比例

。