



肌酐含量(肌氨酸氧化酶法)检测试剂盒 96 样

规格：微量法 100 管/96 样

编号：TW56880

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

试剂一：20mL×1 瓶, -20℃避光保存;

试剂二：7mL×1 瓶, -20℃避光保存;

标准品：粉剂 x1 瓶, 4℃避光保存, 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°C)，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°C，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°C 孵育 5min 后于 546nm 处读取吸光值 A1			
试剂二	60	60	60
混匀，37°C 孵育 15min 后于 546nm 处读取吸光值 A2 $\Delta A = A2 - A1$			

注意

1. 如果 ΔA 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 ΔA 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：

肌酐含量(nmol/g) = (C 标准×V2)×(ΔA 测定-ΔA 空白)÷(ΔA 标准-ΔA 空白)÷(V1÷V×W)×

D=442×(ΔA 测定-ΔA 空白)÷(ΔA 标准-ΔA 空白)÷W×D

2、按液体体积计算：

肌酐含量(μmol/L) = (C 标准×V2)×(ΔA 测定-ΔA 空白)÷(ΔA 标准-ΔA 空白)÷V1×D

=442×(ΔA 测定-ΔA 空白)÷(ΔA 标准-ΔA 空白)×D

V：加入提取液体积，1 mL； D：稀释倍数，未稀释为 1；

V1：加入样本体积，0.006mL； W：样本质量，g；

V2：加入标准品体积，0.006mL；

C 标准：肌酐标准品，0.05mg/mL=442μmol/L=442nmol/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最佳适应稀释浓度范围，指导实验样本稀释比例。