

肌酐 (Cr) 检测试剂盒

货号：RBC0012

规格：42S

检测范围：6.25-400mg/mL

检测波长：500nm（酶标仪）

检测时间：60min

适用样本：动物组织、细胞、血清（浆）、尿液等液体样品

使用前请仔细阅读说明书，预实验后再进行批量试验

如有任何问题，可以通过以下方式联系我们：

销售部电话：027-65316809

技术部电话：153-42250750

官方网站：www.reedbio.cn

一、实验原理：

肌酐（creatinine, Cr）是肌肉在人体内代谢的产物，测定血肌酐浓度可以反映肾小球的滤过功能。本试剂盒提供了一种简单易用的比色法，用于检测样本中肌酐含量。其原理是：肌酐酶可催化肌酐产生肌酸，肌酸酶催化肌酸产生肌氨酸和尿素。肌氨酸在肌氨酸氧化酶的催化下氧化产生过氧化氢，过氧化物酶催化过氧化氢氧化 4-氨基安替比林偶联酚，生成红色醌类化合物；在 500nm 有特征吸收峰。测 500nm 处的吸光值，即可测定样品中肌酐含量。

二、试剂盒组分与保存（试剂盒保质期 6 个月）

试剂名称	规格	保存条件
提取液	100mL	4°C
试剂一	15mL	4°C避光
试剂二	1 支	-20°C避光
试剂三	20mL	4°C
标准品（10mg 肌酐）	粉剂×1 支	4°C
酶标板	96T:8 孔×12 条	常温保存

三、需自备的仪器和用品：

酶标仪(500nm)、台式离心机、恒温水浴锅/培养箱、研钵/匀浆器、超声清洗机、天平、可调式移液器、冰和蒸馏水。

样本制备参考附录

四、操作步骤：

1. 预实验注意事项：

1) 实验之前建议选择 2 个预期差异大的样本（每个样本需要同时做样本孔和对照孔，共需要 4 个孔）和标准曲线（7 个孔，分别为 S1-S7）做预实验，1 个空白孔，一共 12 个孔，**正式实验无需重新做标曲和空白孔。**

2) 若预实验测定吸光值超出标准吸光值线性范围，样本可用稀释液进一步稀释，避免实验样本和试剂浪费！

1. 试剂 2 配制：

临用前加入 5mL 试剂 3，混匀待用。用不完的试剂可 4°C保存一周或分装后-20°C保存，避免反复冻融。

2. 工作液配制：

根据需要现配现用(实验用量：200μl/孔)，如：4mL 工作液=试剂二(1mL)+试剂一(3mL)

3. 标准溶液的配制：

标准品临用前加入 1mL 去离子水溶解得 **10 mg/mL** 标准品，即 10000μg/mL，记为 **S0**。溶解后的标准品可 4°C保存 1 个月或分装-20°C长期保存。

标准曲线设置：按下表所示，用去离子水将 **S0** 稀释为 400、200、100、50、25、12.5、12.5、6.25μg/mL 的标准溶液。

编号	标准液体积(μL)	稀释液体积(μL)	稀释后浓度 (μg/mL)
S1	8μL S0	192	400
S2	100μL S1	100	200
S3	100μL S2	100	100
S4	100μL S3	100	50
S5	100μL S4	100	25
S6	100μL S5	100	12.5
S7	100μL S6	100	6.25

4. 实验步骤及结果计算：

1) 酶标仪预热 30min 以上，调节波长至 **500nm**。

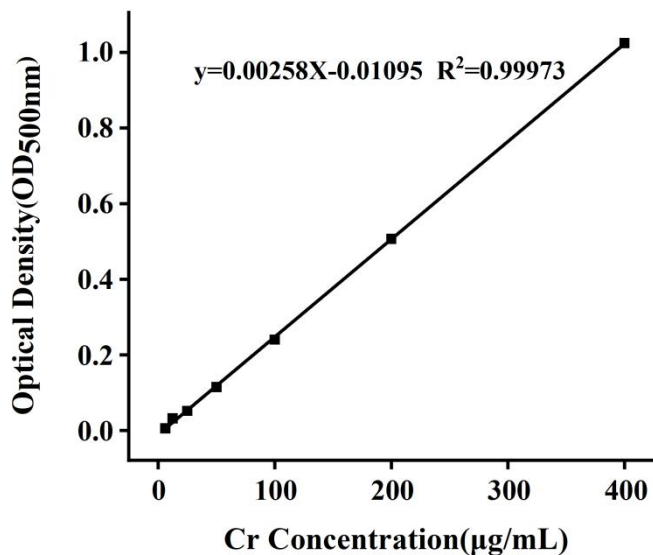
2) 操作表：

试剂名称 (μL)	标准孔(μL)	空白孔(μL)	测定孔(μL)	对照孔(μL)
标准曲线 (S1-S7)	20	0	0	0
样本	0	0	20	20
去离子水	0	20	0	0
工作液	200	200	200	0
试剂三	0	0	0	200

混匀,37°C静置 **60min**，测定 **500nm** 处吸光值 A。空白孔记为 $A_{空}$ ，标准孔记为 $A_{标}$ ，测定孔记为 $A_{测}$ ，对照孔记为 $A_{对}$ 。计算 $\Delta A_{测} = A_{测} - A_{对}$ ， $\Delta A_{标} = A_{标} - A_{空}$

标准曲线的绘制：

以标准液浓度为 y 轴， $\Delta A_{标}$ 为 x 轴，绘制标准曲线（浓度为 y 轴更方便计算结果）。将 $\Delta A_{测}$ 带入方程得到 y 值 (mg/mL)



不同检测条件下，实际读数因标准品的配制、检测仪器等不同而存在差异，图中数据仅供参考！

3) 结果计算

按样本质量计算	Cr 含量 (μg/g 质量) = $y \div W \times N$
按液体体积计算	Cr 含量 (μg/mL) = $y \times N$
按样本蛋白浓度计算	Cr 含量 (μg/mg prot) = $y \div Cpr \times N$
按细胞/细菌数量计算	Cr 含量 (μg/10 ⁴ cell) = $0.002 \times y \times N$
<p>V_样: 加入样本体积, 0.02mL;</p> <p>W: 样本质量, g;</p> <p>V_{样总}: 加入提取液体积, 1mL;</p> <p>N: 样本稀释倍数;</p> <p>Cpr: 样本蛋白浓度, mg/mL;</p> <p>500: 细胞数量, 500 万。</p>	

肌酐含量计算详细公式

1. 按照样本鲜重计算

$$\text{肌酐含量 (mg/g 鲜重)} = y \times V_{\text{样}} \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \times n = y \div W \times n$$

2. 按照细菌或细胞数量计算

$$\text{肌酐含量 (mg/10}^4 \text{ cell)} = y \times V_{\text{样}} \div (\text{细胞数量} \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \times n = y \div 500 \times n = 0.002 \times y \times n$$

3. 按照液体体积计算

$$\text{肌酐含量 (mg/mL)} = y \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样}} \times n = y \times n$$

4. 按照蛋白浓度计算

$$\text{肌酐含量 (mg/mg prot)} = y \times V_{\text{样}} \div (V_{\text{样}} \times Cpr) \times n = y \div Cpr \times n$$

附录（样本处理）：

1. 组织样本：称取约 0.1g 样本，加入 1mL 提取液，冰浴匀浆，12,000g，4°C 离心 10min，取上清液待测。
2. 细菌/细胞样本：收集 500 万细胞或细菌到离心管内，用冷 PBS 清洗细胞或细菌，离心后弃上清，加入 1mL 提取液，冰浴超声波破碎细胞 5min（功率 20% 或 200W，超声 3s，间隔 7s，重复 30 次），然后 12,000g，4°C 离心 10min，取上清待测。
3. 液体样本：直接检测；若浑浊，离心后取上清检测。

技术资源

微信扫描左下二维码，获得更详细的实验指南和常规问题分析如有任何技术问题，请与我司联系(建议及时对显色结果拍照，保留实验数据以及未使用的试剂)。

