



肌酐 (creatinine, Cre) 含量测定试剂盒说明书

分光光度法 50 管/24 样

正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定

测定意义:

肌酐是肌肉在人体内代谢的产物,主要由肾小球滤过排出体外。血中的肌酐来源包括外源性和内源性两部分,血肌酐几乎全部经肾小球滤过进入原尿,并且不被肾小管重吸收;内源性肌酐每日生成量几乎保持恒定,严格控制外源性肌酐的摄入时,血肌酐浓度为稳定值,因此,测定血肌酐浓度可以反映肾小球的滤过功能。

测定原理:

肌酐酶可催化肌酐产生肌酸,肌酸酶催化肌酸产生肌氨酸,在 POD 与肌氨酸氧化酶作用下与 4-氨基安替比林反应,在 540nm 下有最大吸光值。

需自备的仪器和用品:

分光光度计、台式离心机、可调式移液器、1mL 玻璃比色皿、研钵、冰、蒸馏水。

试剂的组成和配制:

试剂一:液体 100mL×1 瓶,4℃ 保存;

试剂二:粉剂×1 瓶,-20℃ 避光保存;

试剂三:粉剂×1 瓶,-20℃ 避光保存;

试剂四:粉剂×1 瓶,-20℃ 避光保存;

试剂五:液体 15mL×1 瓶,4℃ 保存;

肌酐提取:

- 1、细菌或培养细胞:先收集细菌或细胞到离心管内,离心后弃上清;按照细菌或细胞数量(10^4 个):提取液体积(mL)为 500~1000:1 的比例(建议 500 万细菌或细胞加入 1mL 试剂一),超声波破碎(冰浴,功率 20%或 200W,超声 3s,间隔 10s,重复 30 次),8000g,25℃ 离心 10min,取上清待测。
- 2、组织:按照组织质量(g):提取液体积(mL)为 1:5~10 的比例(建议称取约 0.1g 组织,加入 1mL 试剂一),进行冰浴匀浆,8000g,25℃ 离心 10min,取上清待测。
- 3、血清(浆)等液体样品:直接测定。

测定步骤:

- 1、分光光度计预热 30min 以上,调节波长至 540nm,蒸馏水调零。
- 2、试剂的配制:临用前分别在试剂二中加入 1.5mL 试剂一,试剂三中加入 3mL 试剂一,试剂四中加入 15mL 试剂一,充分溶解后放在冰上待用,用不完的试剂分装后-20℃ 保存一周;
- 3、工作液的配制:临用前按照样本数量,按以下比例配制工作液

试剂名称(μL)	测定工作液	对照工作液
试剂一	300	350
试剂二	50	
试剂三	50	50
试剂四	250	250
试剂五	250	250



北京沃凯生物科技有限公司
全国免费电话:400-819-385
www.bjoka-vip.com

Tel:010-62971590. Fax:62340519
M-mail:postmaster@oka-vip.com

4、样本测定

按下表在 EP 管中加入如下试剂

试剂名称 (μL)	测定管	对照管
样本	100	100
测定工作液	900	
对照工作液		900

37°C 孵育 60min, 540nm 下测定吸光值 A 测定与 A 对照, $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ 。

肌酐含量计算:

1、标准条件下测定回归方程为 $y = 1.0772x - 0.0081$, $R^2 = 0.9998$; x 为肌酐含量 ($\mu\text{mol/mL}$), y 为吸光值。

2、按照液体体积计算

$$\begin{aligned} \text{肌酐含量 } (\mu\text{mol/mL}) &= (\Delta A + 0.0081) \div 1.0772 \\ &= 0.928 \times (\Delta A + 0.0081) \end{aligned}$$

3、按照蛋白浓度计算

$$\begin{aligned} \text{肌酐含量 } (\mu\text{mol/mg prot}) &= [(\Delta A + 0.0081) \div 1.0772 \times V1] \div (V1 \times Cpr) \\ &= 0.928 \times (\Delta A + 0.0081) \div Cpr \end{aligned}$$

4、按照样品质量计算

$$\begin{aligned} \text{肌酐含量 } (\mu\text{mol/g 鲜重}) &= [(\Delta A + 0.0081) \div 1.0772 \times V1] \div (W \times V1 \div V2) \\ &= 0.928 \times (\Delta A + 0.0081) \div W \end{aligned}$$

3、按照细菌或细胞密度计算

$$\begin{aligned} \text{肌酐含量 } (\mu\text{mol}/10^4 \text{ cell}) &= [(\Delta A + 0.0081) \div 1.0772 \times V1] \div (\text{细胞数量} \times V1 \div V2) \\ &= 0.928 \times (\Delta A + 0.0081) \div \text{细胞数量} \end{aligned}$$

V1: 加入反应体系中样本体积, 0.1 mL; V2: 加入提取液体积, 1 mL; Cpr: 样本蛋白质浓度, mg/mL; W: 样本质量, g。

