

肌酐含量检测试剂盒（肌氨酸氧化酶法）（可见分光光度法）

产品货号：BA1877

产品规格：50管/48样

产品简介：

肌酐（creatinine, Cr），化学式是 $C_4H_7N_3O$ ，是肌肉在人体内代谢的产物，主要由肾小球滤过排出体外。血中肌酐来自外源性和内源性两种，外源性肌酐是肉类食物在体内代谢后的产物；内源性肌酐是体内肌肉组织代谢的产物。

肌酐在肌酸酶的催化下肌酸水解生成肌氨酸和尿素，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，生成有色化合物，在505nm有特征吸收峰。

注意：实验之前建议选择2-3个预期差异大的样本做预实验。如果样本吸光值不在测量范围内建议稀释或者增加样本量进行检测。

产品组成：

试剂名称	规格	保存条件
提取液一	液体60mL×1瓶	2-8℃
提取液二	液体8mL×1瓶	2-8℃
试剂一	粉剂×2支	-20℃
试剂二	粉剂×2支	-20℃
试剂三	粉剂×2支	-20℃
试剂四	粉剂×1支	2-8℃
试剂五	粉剂×2支	-20℃
试剂六A液	液体10mL×1瓶	2-8℃
试剂六B液	液体10mL×1瓶	2-8℃
标准品	粉剂×1支	2-8℃

溶液的配制：

1. 试剂一：临用前每支加入1.7mL蒸馏水，充分溶解。用不完的试剂-20℃分装保存两周。
2. 试剂二：临用前每支加入1.65mL蒸馏水，充分溶解。用不完的试剂-20℃分装保存两周。
3. 试剂三：临用前每支加入1mL蒸馏水（50T/48S），充分溶解。为方便储存故多给一支。用不完的试剂-20℃分装保存两周。
4. 试剂三工作液：根据试验所需用量，按照试剂三:蒸馏水=1:9的比例，充分混匀，现配现用。
5. 试剂四：临用前加入1mL蒸馏水，充分溶解。用不完的试剂-20℃分装保存两个月。
6. 试剂五：临用前每瓶加入3.4mL蒸馏水，充分溶解。用不完的试剂-20℃分装保存两周。
7. 试剂六：临用前根据实验所需用量，按照试剂六A液：试剂六B液=1:1的比例，充分混匀，现用现配。
8. 标准品：1mg肌酐。临用前加入1mL蒸馏水，充分溶解，即1mg/mL标准储备液，2-8℃保存1个月。临用前取50 μ L和200 μ L蒸馏水混合配制成200 μ g/mL的标准溶液备用，现用现配。

需自备的仪器和用品：

可见分光光度计、低温离心机、可调式移液器、1mL玻璃比色皿、研钵/匀浆器、冰和蒸馏水、超声破碎仪。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q：807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com

操作步骤:

一、样本处理（可适当调整待测样本量，具体比例可参考文献）

1. 细菌、细胞样本的制备：按照细胞数量（ 10^4 个）：提取液一体积（mL）为500~1000：1的比例（建议500万细胞加入1mL提取液一），冰浴超声波破碎细胞（功率300W，超声3秒，间隔9秒，总时间5min）；于4℃，12000g离心10min，取0.8mL上清液，再加入0.15mL提取液二，混匀，4℃，12000g离心10min后取上清待测。
2. 组织样本的制备：按照质量（g）：提取液一体积(mL)为1：5~10的比例（建议称取约0.1g组织，加入1mL提取液一）加入提取液一，冰浴匀浆后于4℃，12000g离心10min，取0.8mL上清液，再加入0.15mL提取液二，混匀，4℃，12000g离心10min后取上清待测。
3. 血清（浆）：取100μL血清（浆）加入1mL提取液一，4℃，12000g离心10min，取0.8mL上清液，再加入0.15mL提取液二，混匀，4℃，12000g离心10min后取上清待测。

二、测定步骤

1. 分光光度计预热30min以上，调节波长至505nm，蒸馏水调零。
2. 按下表步骤加样：

试剂名称（μL）	测定管	空白管	标准管
样本	60	-	-
蒸馏水	-	60	-
标准液	-	-	60
试剂一	60	60	60
试剂二	60	60	60
试剂三工作液	15	15	15
试剂四	15	15	15
充分混匀，37℃（哺乳动物）或25℃（其他物种）条件下，反应10min。			
试剂五	120	120	120
试剂六	270	270	270
充分混匀，37℃（哺乳动物）或25℃（其他物种）条件下，显色30min。			
蒸馏水	400	400	400
充分混匀。测定505nm处的吸光度。分别记为A测定、A空白、A标准。 $\Delta A_{测} = A_{测} - A_{空白}$ ， $\Delta A_{标} = A_{标准} - A_{空白}$ 。			

注：空白管只需做1-2次。

三、肌酐含量计算

1. 计算公式

(1) 按照蛋白浓度计算

$$\text{肌酐含量} (\mu\text{g}/\text{mg prot}) = C_{标} \times \Delta A_{测} \div \Delta A_{标} \times V_{样} \div (V_{样} \times C_{pr}) = 200 \times \Delta A_{测} \div \Delta A_{标} \div C_{pr}$$

(2) 按照样本质量计算

$$\begin{aligned} \text{肌酐含量} (\mu\text{g}/\text{g 质量}) &= C_{标} \times \Delta A_{测} \div \Delta A_{标} \times (V_{上清} + V_{提取液二}) \div (W \times V_{上清} \div V_{提取液一}) \\ &= 237.5 \times \Delta A_{测} \div \Delta A_{标} \div W \end{aligned}$$

(3) 按照细菌或细胞数量计算

$$\begin{aligned} \text{肌酐含量} (\mu\text{g}/10^4 \text{ cell}) &= C_{标} \times \Delta A_{测} \div \Delta A_{标} \times (V_{上清} + V_{提取液二}) \div (\text{细胞数量} \times V_{上清} \div V_{提取液一}) \\ &= 237.5 \times \Delta A_{测} \div \Delta A_{标} \div \text{细胞数量} \end{aligned}$$

(4) 按照血清（浆）体积计算

$$\begin{aligned} \text{肌酐含量} (\mu\text{g}/\text{mL}) &= C_{标} \times \Delta A_{测} \div \Delta A_{标} \times (V_{上清} + V_{提取液二}) \div [V_{液体} \times V_{上清} \div (V_{提取液一} + V_{液体})] \\ &= 2612.5 \times \Delta A_{测} \div \Delta A_{标} \end{aligned}$$

C标：标准管浓度，200μg/mL；V样：加入样本体积，60μL=0.06mL；V上清：提取时上清液体积，0.8mL；V提取液一：加入提取液一体积，1mL；V提取液二：加入提取液二体积，0.15mL；W：样本质量，g；Cpr：样



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q：807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com

本蛋白浓度，mg/mL；细胞数量：以 10^4 计；V 液体：液体样本体积，0.1mL。

注意事项：

1. 提取液中含有蛋白沉淀剂，提取的上清液不能用于蛋白浓度的测定。若想要用蛋白浓度计算肌酐含量需要另取样本，即取相同质量的组织、同等数目的细菌或细胞，用 1.1875mLPBS（生理盐水）匀浆；取相同体积的血清（浆），用 1.206mLPBS（生理盐水）匀浆（相当于提取步骤最终样本上清液），用 BCA 法进行蛋白浓度测定。
2. 如果测定吸光值超过标准管吸光值，建议用蒸馏水稀释样本后再进行测定。如果 ΔA 测定小于 0.01，建议增大样本量后再进行测定。

实验实例：

1. 取 0.1g 小鼠肌肉加入 1mL 提取液一进行匀浆研磨离心，取 0.8mL 上清后加 0.15mL 提取液二，离心取上清后按照测定步骤操作，测得计算 $\Delta A_{\text{测}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}} = 0.159 - 0.016 = 0.143$ ， $\Delta A_{\text{标}} = A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}} = 0.373 - 0.016 = 0.357$ 。按样本质量计算含量得：
肌酐含量 ($\mu\text{g/g}$ 质量) $= 237.5 \times \Delta A_{\text{测}} \div \Delta A_{\text{标}} \div W = 951.3 \mu\text{g/g}$ 质量。
2. 取 100 μL 牛血清加入 1mL 提取液一，取 0.8mL 上清后加 0.15mL 提取液二，离心取上清，之后按照测定步骤操作，测得计算 $\Delta A_{\text{测}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}} = 0.095 - 0.079 = 0.079$ ， $\Delta A_{\text{标}} = A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}} = 0.373 - 0.016 = 0.357$ 。按照液体体积计算含量得：
肌酐含量 ($\mu\text{g/mL}$) $= 2612.5 \times \Delta A_{\text{测}} \div \Delta A_{\text{标}} = 578 \mu\text{g/mL}$ 血清。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q：807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com