肌酐（Cr）含量检测试剂盒说明书（肌氨酸氧化酶法）

规格：96 样　　方法：酶标仪法

一、注意事项

1. 使用前请通读一遍说明书再开始实验。

2. 正式检测前选取 2~3 个样本进行预检测。

3. 本试剂盒仅用于科研。

4. 如果样本测定吸光值大于 3，建议将样本用蒸馏水稀释直至其吸光度值小于 3 后进行测定，计算时乘以相应稀释倍数。

二、产品组分

试剂名称	试剂规格	保存条件	备注
试剂一	125 mL×1	4℃	
试剂二	粉剂×1	-20℃避光	临用前加入 1.1 mL 试剂一，用不完的试剂可分装后-20℃保存一周。
试剂三	粉剂×2	-20℃避光	临用前每管加入 1.1 mL 试剂一，用不完的试剂可分装后-20℃保存一周。
试剂四	粉剂×1	-20℃避光	临用前加入 11 mL 试剂一，用不完的试剂可分装后-20℃保存一周。
试剂五	粉剂×1	4℃避光	临用前加入 11 mL 试剂一，若试剂变红则不能继续使用。
标准品	粉剂×1	4℃避光	临用前加入 2 mL 超纯水/蒸馏水，得到 1000 μg/mL 标准溶液，如需重新做标曲则用到该试剂，标准系列溶液按照与待测样本相同的操作步骤同步测定。

三、仪器和用品

酶标仪、96 孔板、移液器、天平、可降温离心机、超纯水/蒸馏水、研磨仪/研钵、冰、水浴锅。

四、样品制备

1. 组织：按照组织质量（g）：试剂一（mL）为 1：5~10 的比例（建议称取约 0.1 g 组织，加入 1 mL 试剂一）进行冰浴匀浆，然后，10000 g，4℃，离心 10 min，置于冰上，上清为待测样本。

2. 液体样本：直接测定。若有浑浊请离心后取上清置于冰上待测。

3. 细菌/细胞：按照细菌/细胞数量（10^4 个）：试剂一（mL）为 500~1000：1 的比例（建议 500 万细胞加入 1 mL 试剂一），冰浴超声波破碎细胞（功率 200 W，超声 3 秒，间隔 10 秒，重复 30 次）；然后 8000 g，4℃， 离心 10 min，置于冰上，上清为待测样本。

五、测定步骤：

1. 酶标仪预热 30 min 以上，波长调至 540 nm 处。

2. 工作液配制：临用前根据样本数量，按以下比例配制工作液

试剂名称	测定工作液 （μL）	对照工作液 （μL）
试剂一	60	70
试剂二	10	-
试剂三	10	10
试剂四	50	50
试剂五	50	50

3. 在 96 孔板中依次加入：

	测定管	对照管
样本 （μL）	20	20
测定工作液 （μL）	180	-
对照工作液 （μL）	-	180
充分混匀，37℃培养 60 min，立即于 540 nm 处测定吸光度值，记 A 测定、A 对照，ΔA 测定=A 测定-A 对照，每个测定管需设置一个对照管。		

六、计算：

标准方程：

标准条件下测定回归方程为 y=0.0051x-0.0162，R^2=0.9996；x 为标准品浓度（μg/mL），y 为吸光值ΔA。

1. 按样本蛋白浓度计算（需另测蛋白浓度）：

肌酐含量（μg/mg prot）=[（ΔA+0.0162）÷0.0051×V1]÷（V1×Cpr）=196.1×（ΔA+0.0162）÷Cpr

2. 按照液体样本体积计算

肌酐含量（μg/mL）=（ΔA+0.0162）÷0.0051=196.1×（ΔA+0.0162）

3. 按照样本质量计算

肌酐含量（μg/g 鲜重）=[（ΔA+0.0162）÷0.0051×V1]÷（W×V1÷V2）

=196.1×（ΔA+0.0162）÷W

4. 按照按细胞/细菌密度计算

肌酐含量（μg/10^4 cell）=[（ΔA+0.0162）÷0.0051×V1]÷（N×V1÷V2）=196.1×（ΔA+0.0162）÷N

V1：加入反应体系中样本体积，0.02 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；N：细胞/细菌数量，万个。

七、产品简介

肌酐（Cr）是肌肉代谢终产物，由肌酸 / 磷酸肌酸不可逆降解生成，仅经肾脏肾小球滤过排泄，几乎不重吸收、极少分泌，是动物临床生化核心肾功能指标，同时反映肌肉量、代谢、营养状态。