

肌酐 (Cr) 含量检测试剂盒 (快速)

检测意义及原理:

肌酐 (Creatinine, Cr) 是机体肌肉代谢的产物, 它是由肌酸脱去一分子水缩合而成的一种环状结构。形成后的肌酐基本上通过肾脏排出体外。除非肌肉质量有大的变化, 机体通常情况所形成的肌酐量是相当恒定的; 因此游离肌酐的血液循环量完全依赖于它的排泄速度。从而测定血清或血浆中的肌酐量, 可用于肾功能检查。血清肌酐值是评价肾小球滤过率及诊断急性、慢性肾功能衰竭的有效指标。

本试剂盒采用紫外可见光比色法在酶标板上操作, 标准品和待测样品中的肌酐与显色液发生反应, 在 338nm 处测 OD 值, 肌酐含量与该 OD 值成反比, 可通过绘制标准曲线求出样品中肌酐浓度。

试剂盒特点:

- 1. 单孔自身对照:** 本试剂盒中, 每孔样本既是实验组, 自身又是对照组。这样既避免了用缓冲液或提取液做对照导致的结果的不够精确性, 又避免了每个样本再多出一孔做对照而造成的样本浪费和操作繁琐。因此大大节约了研究成本、提升了实验效率。
- 2. 灵敏度高:** 本试剂盒采用最新方法改良配方, 可以检测到浓度低至 7.8125 $\mu\text{mol/L}$ 的肌酐。
- 3. 特异性强:** 本试剂盒基于最新科研成果而研发, 对于肌酐的检测具有高度专一性、不受其他因素影响的趋势。
- 4. 操作快速:** 40min 内即可完成。
- 5. 高通量操作:** 本试剂盒反应敏感度适中, 实验结果稳定, 不会出现因为 2~3min 之时间差导致前后加样各组实验结果变化很大的情况。因此可一批次操作多个样本, 从而提升实验效率。

试剂盒组分: (保存: 2-8 $^{\circ}\text{C}$ 避光, 有效期: 1年)

名称	规格 (48 T)	规格 (96 T)
紫外微孔板	1块	1块
肌酐标准品	1mL	1mL
缓冲液	15mL	25mL
底物液	150 μL	300 μL
催化液	45 μL	85 μL
增强液	45 μL	85 μL
稳定剂	3mL	3mL
反应剂	1mL	2mL
产品说明书	1份	1份

本试剂盒适用于血清、血浆、尿液、组织匀浆、细菌、细胞培养上清及其它样本。

需要自备试剂和器材:

1. 酶标仪、离心机、匀浆器、天平、制冰机及实验室常规仪器。
2. 多种规格单通道或多通道移液器。
3. 不同规格的试管和离心管, 加样槽、96孔板。
4. 漩涡混匀器。

5. 去离子水或蒸馏水。

标本收集:

- 组织标本:** 将组织块用PBS漂洗干净, 按照组织质量 (g) : 双蒸水体积(mL)为1:5 ~ 10的比例 (建议称取约0.1g组织, 加入1mL双蒸水) 进行冰浴匀浆, 然后12000g室温离心10min, 取上清混匀后待测。
- 细菌或细胞标本:** 按细胞数量 (10^4 个) : 双蒸水体积 (mL) 为500 ~ 1000:1的比例 (建议500万细胞加入0.5mL双蒸水) 重悬浮细胞, 冰浴超声波破碎细胞 (功率300w, 超声3秒, 间隔7秒, 总时间3min); 12000g 4°C离心10min, 取上清液置冰上待测。
- 血清等液体标本:** 血清 (浆) 直接测定。尿液用生理盐水做1:10 ~ 1:50稀释后与血清 (浆) 操作相同。

试剂准备:

1. 标准品的配制:

A, 肌酐标准液配制: 取肌酐标准品50 μ L, 用950 μ L的双蒸水进行稀释, 即得1mmol/L肌酐标准工作液。

B, 标准液浓度梯度配制: 如下图操作

组别	blank	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7
肌酐标准液 (μ L)	0	1	2	4	8	16	32	64
双蒸水 (μ L)	64	63	62	60	56	48	32	0
稀释后肌酐浓度 (μ mol/L)	0	15.625	31.25	62.5	125	250	500	1000

注意: 1, 样品在什么溶液中, 标准品也需用什么溶液稀释, 这样可以减小误差。

2, 初次测定后知道样品的浓度范围后, 可以对标准品在样品浓度范围附近密集测定。

2. 稳定液的配制: 在装有稳定剂的试剂瓶中, 加入3mL缓冲液, 混匀即得稳定液。

注意: 每次实验, 请使用新配制的稳定液; 配制好的稳定液需要在4°C避光保存, 并于1d之内使用。

3. 显色液的配制: 在装有反应剂的试剂瓶中, 依次加入稳定液、缓冲液、底物液、催化液和增强液 (48T试剂盒的分别加入100 μ L、720 μ L、100 μ L、40 μ L和40 μ L, 96T试剂盒的分别加入200 μ L、1.44mL、200 μ L、80 μ L和80 μ L), 边加边混匀, 最后充分溶解即得显色液。

注意: 每次实验, 请使用新配制的显色液; 配制好的显色液需要在4°C避光保存, 并于1d之内使用。

检测程序:

- 加待测样本:** 将配制好的标准液及待测样品各取20 μ L加入到紫外酶标板孔内。
- 加缓冲液及读数:** 每个标准液及待测样品酶标孔内加入缓冲液180 μ L, 混匀, 于338nm处读OD值 (标记为OD1)。
- 加显色液及读数:** 每个标准液及待测样品酶标孔内加入显色液20 μ L, 混匀, 室温静置30min, 于338nm处读OD值 (标记为OD2)。

注意: 该步骤需要使用8或12通道移液器操作。如果没有, 建议将酶标板垫在纸巾和保鲜膜上放置冰浴中再行操作 (尤其是样本量多的情况下); 或者快速加液 (2~3min内完成)。

结果判断与计算:

- 所有各孔OD值为OD2 - OD1。

2. 以标准品浓度作横坐标，OD值作纵坐标，手工绘制或用软件绘制标准曲线，根据样品OD值计算出相应含量，再乘以稀释倍数即可。

注意事项

1. 请自备离心管及离心管架等常规检测设备及仪器。
2. 正式测定之前选择2~3个预期差异大的样本做预测定，以熟悉实验流程。
3. 试剂盒开封后剩余试剂放回袋中1个月内用完。
4. 实验前请认真仔细阅读此说明书，说明书以试剂盒内纸质版为准。
5. 本试剂盒仅用于科研，不能用于临床诊断！
6. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性口罩和手套操作。

相关文献:

1: Low expression of dendritic cell-specific intercellular adhesion molecule-3-grabbing nonintegrin in non-Hodgkin lymphoma and a significant correlation with b2-microglobulin

Med Oncol (2014) 31:202 DOI 10.1007/s12032-014-0202-6.

2: APRIL promotes non-small cell lung cancer growth and metastasis by targeting ERK1/2 signaling

Oncotarget, 2017, Vol. 8, (No. 65), pp: 109289-109300

3: Knockdown of SALL4 inhibits the proliferation, migration, and invasion of human lung cancer cells in vivo and in vitro

Ann Transl Med 2020;8(24):1678 | <http://dx.doi.org/10.21037/atm-20-7939>

4: NF90 stabilizes cyclin E1 mRNA through phosphorylation of NF90-Ser382 by CDK2

Ding et al. Cell Death Discovery (2020) 6:3 <https://doi.org/10.1038/s41420-020-0236-9>.

注: 更多使用本产品的文献请参考威奥生物官网。