**肌酐（Cr）检测报告含量测定试剂盒说明书（货号：PYB2047，规格：96T）**

1. **实验原理：**

肌酐(Creatinine)在肌酐酰胺水解酶的催化下生成肌酸，肌酸在肌酸胺基水解酶的催化下水解成肌氨酸和尿素，肌氨酸再经肌氨酸氧化酶催化生成甘氨酸、甲醛和过氧化氢。过氧化氢与2，4-（6-三碘-3-羟基苯甲酸）及4-氨基安替比林在过氧化物酶的催化下反应生成紫红色化合物。可通过546nm波长比色测定。

肌酸胺水解酶

肌酐酰胺水解酶

肌酐+水 肌酸 ，肌酸+H2O+O2 肌氨酸+尿素

过氧化物酶

肌氨酸氧化酶

肌氨酸+H2O+O2  甘氨酸+HCHO+H2O2, 2H2O2+4-氨基安替比林+2,4-DCP 醌亚胺+4H2O

1. **试剂组份**：

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| 试剂名称 | 规格装量 | 保存条件 |
| 试剂一（R1）：酶溶液A | 18mL | 4℃避光 |
| 试剂二（R2）：酶溶液B | 6mL | 4℃避光 |
| 试剂三：标准品（442μmol/L） | 100μL | 4℃ |
| 96孔平底酶标板 | 一块 | 室温 |

所需仪器及试剂: 可调 546nm 波长的酶标仪， 37℃水浴锅或恒温箱，蒸馏水，生理盐水。

1. **使用步骤：**

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| 孔别  加入物 | 测定（T） | 标准（S） | 空白（B） |
| 样本（μL） | 6 |  |  |
| 试剂三：标准品（μL） |  | 6 |  |
| 蒸馏水（μL） |  |  | 6 |
| 试剂一：酶溶液A（μL） | 180 | 180 | 180 |
| 37℃孵育5分钟，546nm波长测定吸光度值A1 | | | |
| 试剂二：酶溶液B（μL） | 60 | 60 | 60 |
| 37℃孵育5分钟，546nm波长测定吸光度值A2,计算△A=A2－K\*A1 | | | |

注：测定前先将孔板在546nm处读出其空板OD值,后面实验结束后计算时，A1和A2值均需减去对应孔的空板OD值后才能代入计算公式；K为稀释因子,数值为:

186

加样量+酶溶液A体积

K= =

246

加样量+酶溶液A体积+酶溶液B体积

计算公式：

△A测定-△A空白

肌酐含量（umol/L）= ×C标准

△A标准-△A空白

注意事项：1.在测定尿液样本之前，请用生理盐水将样本稀释2～10倍,结果乘以稀释倍数。

2.试剂二：酶溶液B中加入了防腐剂叠氮化钠，如该物质接触到了皮肤，请立即用水充分冲洗。

3.样品与试剂比例可根据需要按比例调节。

4.不同批次的试剂不推荐混合使用。

5.仅用于科研，不用于体外诊断。检测范围:5-2000μmol/L。