



尿蛋白定量测试盒说明书

（货号：C035-2-1 CBB 法 100 管/96 样）

免责声明：测试前请仔细阅读说明书,预试后再进行批量实验,否则由此导致的后果用户自行承担!

一、测定原理：

在酸性介质中，CBB 与蛋白质的 NH_3^+ 基团结合引起由棕色到蓝色的颜色变化，在 595nm 处有最大吸收峰。

二、试剂组成与配制：（试剂盒有效期 6 个月）

试剂一： CBB 试剂 60mL×1 瓶， 4℃保存 6 个月。用时按 CBB 试剂：蒸馏水=1：4 比例(即 5 倍稀释)配制成 **CBB 应用液**，现用现配。

试剂二： 524mg/L 蛋白标准液 0.5mL×1 支，4℃可保存 1 个月（如需长时间保存，请将标准液分装后-20℃冷冻保存，可存放 6 个月）。

三、所需仪器及试剂：

可见光分光光度计及 1cm 光径比色皿（或酶标仪（595nm）及 96 孔板），涡旋混匀器，蒸馏水。

四、操作方法：

	空白管	标准管	测定管
蒸馏水(mL)	0.05		
524mg/L 蛋白标准液(mL)		0.05	
尿液(mL)			0.05
CBB 应用液(mL)	3.0	3.0	3.0
混匀，室温静置 5 分钟，波长 595nm，光径 1cm，蒸馏水调零，分光光度计测定各管吸光度值 A(或是每管吸取 200μL 反应液加到 96 孔板中,酶标仪 595nm 处读数)			

五、计算公式：

$$\text{尿蛋白浓度 (mg/L)} = \frac{A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}}{A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}} \times \frac{\text{标准液浓度}}{(524\text{mg/L})} \times \frac{\text{样本测试前}}{\text{稀释倍数}}$$

六、注意点：

- 1、样本蛋白浓度过低时可适当加大取样量（如取样 0.1 或 0.2mL，同时标准液需用蒸馏水稀释 2 倍或 4 倍后和样本量体积一致，计算时标准液浓度除以相应的稀释倍数后再代入计算），CBB 应用液量不变；
- 2、测定管 OD 值过高时（测定 OD 减去空白 OD 后的差值比标准 OD 减空白 OD 的差值的 2 倍还大的）要将样本用生理盐水进行稀释后（稀释后选择测定 OD 值接近标准 OD 值对应的稀释倍数）再测；
- 3、一批实验的尿液，因样本浓度差异可能较大，所以不同样本间的稀释倍数可以不同；
- 4、操作表各试剂及样本的体积可根据需要按一定比例同时增大或缩小，计算公式不变。

七、检测范围：

50-1000mg/L。 （代入公式 “ $\text{尿蛋白浓度 (mg/L)} = \frac{A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}}{A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}} \times \frac{\text{标准液浓度}}{(524\text{mg/L})}$ ” 计算判定）