



尿蛋白定量测试盒说明书

（货号：C035-2-1 CBB 法 微板法 96T）

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 5mL×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 0.1mL×1 支，4℃可保存 1 个月（如需长时保存，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：

酶标仪（595±10nm）及 96 孔板（附送一块），涡旋混匀器，蒸馏水。

四、操作方法：

	空白孔	标准孔	测定孔
蒸馏水(μL)	3		
524mg/L 蛋白标准液(μL)		3	
尿液(μL)			3
CBB 应用液(μL)	180	180	180
轻轻振荡孔板混匀，室温静置 5 分钟，波长 595nm，酶标仪读数。			

五、计算公式：

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

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 6μL，同时标准液需用蒸馏水稀释 2 倍后加入 6μL，计算时标准液浓度则为 262mg/L），CBB 应用液量不变；
- 2、测定孔 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，所以在准备试剂的时候尽量多准备一部分试剂，用于偏高或偏低的样本重测；
- 4、孔板操作时注意不要引入气泡，以免影响读数。

七、检测范围：

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

量操作了，则检测范围也相应降低）