

尿蛋白含量（CBB 法）测定试剂盒说明书

（货号：ADS-W-D033 微板法 96 样 有效期：3 个月）

一、指标介绍：

在酸性介质中，CBB 与蛋白质的 NH_3^+ 基团结合形成蓝色复合物；在 600nm 处有最大吸收峰。其颜色的深浅与尿蛋白含量成正比。

二、测试盒组成和配制：

试剂组分	试剂规格	存放温度	注意事项
试剂一	液体 16mL×1 瓶	4℃避光保存	
标准品	粉体 1 支	4℃保存	1. 临用前 8000g 4℃离心 2min 使试剂落入管底； 2. 加 1mL 蒸馏水混匀溶解即 10mg/mL 标准品母液； 3. 将母液稀释 10 倍（100μl 母液+900μl 水）为 1mg/mL 即 1g/L 进行测定。

二、实验器材：

研钵（匀浆机）、天平、冰盒（制冰机）、台式离心机、可调式移液枪、水浴锅（烘箱、培养箱、金属浴）、96 孔板、离心管、酶标仪、蒸馏水（去离子水、超纯水均可）。

四、指标测定：

建议先选取 1-3 个差异大的样本（例如不同类型或分组）进行预实验，熟悉操作流程，根据预实验结果确定或调整样本浓度，以防造成样本或试剂不必要的浪费！

1、样本提取：

- ① 液体样本：澄清液体样品可以直接测定。若浑浊，离心后取上清检测。

2、检测步骤：

- ① 酶标仪预热 30min（等待仪器过自检程序亦可），设定波长到 600nm。
② 配制**试剂一稀释液**即试剂一:蒸馏水=1:1 比例配制，即试剂一的 2 倍稀释。
③ 在 96 孔板中按下表依次加入：

试剂组分（μL）	测定管	标准管 （只做一次）	空白管 （只做一次）
样本	10		
标准品		10	
蒸馏水			10
试剂一稀释液	300	300	300
混匀，置于室温（25℃）静置 10min，600nm 处测定吸光值 A（5~15min 完成比色）， $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{空白管}}$ 。			

【注】：若 ΔA 低于 0.01，可适当增加样本加样量 V1（如由 10μL 增至 20μL 或更多），同时标准品稀释相应的倍数后和样本加入量体积一致，计算时标准品浓度除以相应的稀释倍数后再代入计算，而试剂一加入量不变。

五、结果计算：

尿蛋白(mg/mL) = (C 标准 × V 标) × $\Delta A \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \div V1 \times D = 1 \times \Delta A \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \times D$

尿蛋白(g/L) = (C 标准 × V 标) × $\Delta A \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \div V1 \times D = 1 \times \Delta A \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \times D$

C 标准---标品浓度，1mg/mL=1g/L；

V 标---加入标准品体积，0.01mL；

V1---加入样本体积，0.01mL；

D---稀释倍数，未稀释即为 1。