

尿蛋白含量检测试剂盒说明书（丽春红比色法）

微量法

规格：100T/96S

产品组成：使用前请认真核对试剂体积与瓶内体积是否一致，有疑问请及时联系工作人员。

试剂名称	规格	保存条件
试剂一	液体 12 mL×1 瓶	2-8°C保存
试剂二	液体 24 mL×1 瓶	2-8°C保存
标准品	液体 1 mL×1 支	-20°C保存

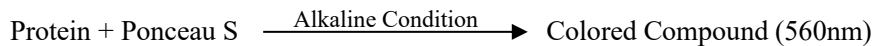
溶液的配制：

- 1、试剂一工作液：临用前根据样本数量按照试剂一：蒸馏水=0.1mL：0.9mL（1mL，1T）的比例配制试剂一工作液；
- 2、标准品：5mg/mL BSA 标准液。临用前取 80μL 5mg/mL BSA 标准液，加入 920μL 蒸馏水，配制成 0.4 mg/mL BSA 标准液，现用现配。

产品说明：

尿液中蛋白含量增加，表明肾脏系统的重吸收作用减弱，通常可作为肾脏疾病临床诊断的辅助依据。

在尿液样本中加入蛋白沉淀剂和丽春红染料，离心得到的蛋白质-染料复合物可溶解于碱性溶液，检测其在 560nm 处的吸光值可计算得到样本蛋白含量。



注意：实验之前建议选择 2-3 个预期差异大的样本做预实验。如果样本吸光值不在测量范围内建议稀释或者增加样本量进行检测。

需自备的仪器和用品：

可见分光光度计/酶标仪、离心机、微量玻璃比色皿/96孔板、可调式移液枪、2mL EP管、冰和蒸馏水。

操作步骤：

一、样本处理

1. 尿液等液体样本：直接测定。若有浑浊请离心后取上清置于冰上待测。

二、测定步骤

1. 可见分光光度计/酶标仪预热30min以上，调节波长至560nm，分光光度计蒸馏水调零。
2. 操作表：

试剂名称（μL）	测定管	标准管	空白管
蒸馏水	-	-	400
标准品	-	400	-
样本	400	-	-
试剂一工作液	1000	1000	1000

充分混匀，3500rpm常温离心10min，弃全部上清，留全部沉淀。			
试剂二	200	200	200
充分溶解沉淀，于560nm处测定各管吸光值，分别记为A测定、A标准和A空白，计算 $\Delta A_{测定}=A_{测定}-A_{空白}$ ， $\Delta A_{标准}=A_{标准}-A_{空白}$ 。空白管和标准管只需测1-2次。			

三、尿蛋白含量计算

尿蛋白含量 (mg/mL) = $\Delta A_{测定} \times (C_{标} \div \Delta A_{标准}) \times V_{样} \div V_{样} = 0.4 \times \Delta A_{测定} \div \Delta A_{标准}$

C标：标准管浓度，0.4mg/mL；V样：加入样本体积，0.4mL。

注意事项：

- 1、实验过程中离心步骤结束后，上清液需要全部除去，同时不可损失沉淀，否则会影响比色结果。
- 2、如果 ΔA 测定小于0.006或测定管吸光值接近空白管，可以增加样本量后再进行测定；如果 ΔA 测定大于0.4，建议将样本用蒸馏水适当稀释后再进行测定。注意同步修改计算公式。

实验实例：

1. 取400 μ L实验大鼠尿液样本，按照测定步骤操作，用96孔板测得计算： $\Delta A_{测定}=A_{测定}-A_{空白}=0.171-0.049=0.122$ ， $\Delta A_{标准}=A_{标准}-A_{空白}=0.273-0.049=0.224$ ，按液体体积计算得：
尿蛋白含量 (mg/mL) = $0.4 \times \Delta A_{测定} \div \Delta A_{标准} = 0.217$ mg/mL。