

CheKine™ 尿蛋白含量检测试剂盒（邻苯三酚红钼法）

货号：KTB2224

规格：48 T/48 S

96 T/96 S

批号：见产品标签

≠	检测范围：0.046875-3 g/L		灵敏度：0.046875 g/L
	适用样本：尿液样本		
	保质期：4℃，避光保存 12 个月		

01 背景与原理

尿蛋白 (Urine Protein, UP) 测定是鉴别肾病的重要指标，是基础生化检测指标，尿总蛋白浓度升高常见于肾小球渗透性过高，肾小管吸收不全和蛋白分泌素异常等症状。

本试剂盒检测原理是邻苯三酚红会与钼酸钠结合，形成一种红色的复合物。这个基础复合物在 470nm 附近有最大吸收峰，在酸性环境下，邻苯三酚红-钼酸复合物会特异性地与蛋白质中带正电的碱性氨基酸残基（如赖氨酸、精氨酸）结合。其最大吸收峰从 470nm 移动到约 600nm 附近。

02 包装清单

试剂盒组分	规格		储存条件
	48 T	96 T	
Reagent I	24 mL	48 mL	4℃，避光保存
Standard	1 mL	1 mL	4℃

*请在实验前检查各组分的量。

*各组分在规格基础上额外提供 10%的量用于进行标准曲线制作或预实验。

03 自备仪器与试剂

自备资源类型	资源名称	备注
仪器	酶标仪	能测 600 nm 与 700 nm 处的吸光度
耗材	96 孔酶标板	普通透明板
试剂	生理盐水	稀释样本用
其他	离心机、可调节式移液枪及枪头	检测量较大时合理使用多通道移液器有助于提高实验效率

04 注意事项

- 正式检测前，建议选择 2-3 个预期差异较大的样本进行预实验。
- 本试剂盒兼容分光光度计检测，请按照分光光度计检测要求按比例调节检测试剂配制量。如有疑问，可咨询
本司技术人员（400-6800-830）。
- 生化检测试剂普遍具有刺激性、生物毒性等，为了您的安全和健康，请在实验全程做好生物安全防护，穿戴
实验服、口罩、手套、头套等安全护具，在通风橱、生物安全柜中进行实验。
- 本产品仅供科学研究使用，不适用于临床诊断。

05 实验流程

05-1 试剂准备

05-1-1 试剂准备

试剂名称	试剂准备	注意事项
Reagent I	即用型；使用前平衡到室温	4℃，避光保存
Standard	即用型；使用前平衡到室温	浓度为 10 g/L，4℃保存

05-1-2 标准品配制

按下表所示，使用生理盐水将 10 g/L Standard 稀释至终浓度为 3 g/L、1.5 g/L、0.75 g/L、0.375 g/L、0.1875 g/L、0.09375 g/L、0.046875 g/L 的标准品工作液。每次实验都要做一次标准品检测，制作标曲；稀释后的标准品溶液不稳定，必须在 4 小时内使用。

序号	标准品 (μL)	生理盐水 (μL)	浓度 (g/L)
1	30 μL of 10 g/L	70	3
2	50 μL of 3 g/L	50	1.5
3	50 μL of 1.5 g/L	50	0.75
4	50 μL of 0.75 g/L	50	0.375
5	50 μL of 0.375 g/L	50	0.1875
6	50 μL of 0.1875 g/L	50	0.09375
7	50 μL of 0.09375 g/L	50	0.046875
空白	0	50	0

05-2 样本制备

注意：建议采用新鲜尿液样本进行检测。若使用-80℃冻存样本，检测前请置于冰上解冻；反复冻融及冷冻储存可能造成蛋白降解，致使检测结果偏低。

- 尿液样本：2000 g 室温（25℃）离心 10 s 后取上清直接检测。

05-3 实验步骤

1. 酶标仪准备：预热 30 min 以上，调节波长到 600 nm 和 700 nm。
2. 检测体系配制：标准孔和空白孔只需检测一次，在 96 孔板中按照如下方式操作

试剂	测定孔 (μL)	标准孔 (μL)	空白孔 (μL)
生理盐水	0	0	5
样本	5	0	0
不同浓度的 Standard	0	5	0
Reagent I	300	300	300

混匀，37℃避光孵育 10 min

3. 吸光度检测：记录 600 nm 处吸光值为 A₁，700 nm 处吸光值为 A₂，测定孔记为 A_{测定}，标准孔记为 A_{标准}，空白孔记为 A_{空白}。

06 结果计算

06-1 自动计算

为帮助您更轻松、准确地完成相关计算，我们特在官网提供了“在线计算器小工具”。您无需手动计算，只需在网页上输入数值，即可快速获得可靠结果。访问方式：请扫描右侧二维码或访问官网

[\[https://www.abbkine.cn\]](https://www.abbkine.cn) > 进入“技术中心”> 查找“在线计算器”工具。



06-2 手动计算

以下为您提供的推导过程计算公式和简洁计算公式，两者完全相等。

1. 数据处理

计算 $\Delta A = A_1 - A_2$ ， $\Delta\Delta A_{测定} = \Delta A_{测定} - \Delta A_{空白}$ ， $\Delta\Delta A_{标准} = \Delta A_{标准} - \Delta A_{空白}$ 。

2. 标准曲线的绘制

以 $\Delta\Delta A_{标准}$ 为 x 轴，标准溶液浓度为 y 轴，绘制标准曲线，得到标准方程，将 $\Delta\Delta A_{测定}$ 代入方程得到 y 值 (g/L)。

3. 尿蛋白含量的计算：

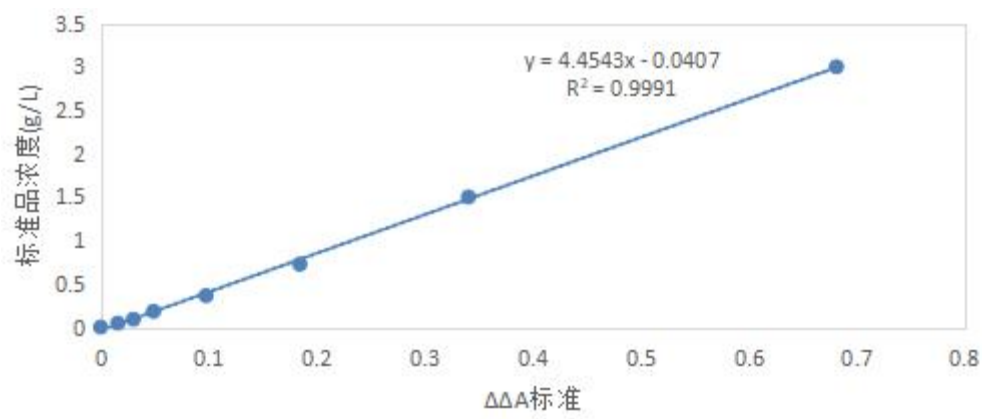
- 按液体体积计算：

尿蛋白(g/L)=(V_样×y)÷V_样×n=y×n

V_样：加入反应体系中样本体积，0.005mL；n：稀释倍数。

07 结果展示

典型标准曲线：y=4.4543x-0.0407，R²=0.9991



示例 -1: 取大鼠尿液样本按照测定步骤操作后，用 96 孔板进行检测。测得 $\Delta\Delta A_{\text{测定}} = \Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}} = 0.259 - 0.220 = 0.039$ ，代入标准曲线，得到 $y = 0.1330$ 。按液体体积计算：尿总蛋白(g/L) = $(V_{\text{样}} \times y) \div V_{\text{样}} \times n = y \times n = 0.1330 \text{ g/L}$ 。

08 FAQ

● 检测得到的样本 $\Delta\Delta A_{\text{测定}}$ 过高或者过低怎么办？

如果样本的 $\Delta\Delta A_{\text{测定}}$ 高于 3 g/L 标准品的 $\Delta\Delta A_{\text{标准}}$ 值，将样本用生理盐水进行稀释后，再进行实验，结果乘以稀释倍数。如果样本 $\Delta\Delta A_{\text{测定}}$ 低于 0.01，可适当增加样本量。

09 相关产品

货号	试剂盒名称
KTB2303	CheKine™ 天门冬氨酸氨基转移酶（谷草转氨酶 AST GOT）活性检测试剂盒（IFCC 速率法）
KTB2302	CheKine™ 丙氨酸氨基转移酶（谷丙转氨酶 ALTGPT）活性检测试剂盒（IFCC 速率法）
KTB1420	CheKine™ 谷草转氨酶（ASTGOT）活性检测试剂盒（微量法）

CheKine™ 尿蛋白含量检测（邻苯三酚红钼法）流程示意图

(Abbking 货号：KTB2224)

样本处理



尿液样本
根据实际需求对样本
稀释或不稀释



2000g 室温 (25℃)，离心10s，取上清



体系配置



样本
Reagent I 5 μ L
300 μ L



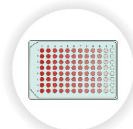
空白孔
生理盐水 5 μ L
Reagent I 300 μ L

标准品配制



标准品
Reagent I 5 μ L
300 μ L

充分混匀，37℃避光孵育10 min



测定600nm和700nm吸光度
结果计算

数据检测