

脲酶（UE）活性检测试剂盒（微量法）

产品货号：BA1219

产品规格：100管/48样

产品简介：

脲酶（UE）广泛分布于植物的种子中，也存在于动物的血液和尿液中，某些微生物也能分泌脲酶。UE能够水解尿素产生氨和碳酸，对尿素转化起关键作用。利用靛酚蓝比色法测定脲酶水解尿素产生的 $\text{NH}_3\text{-N}$ 来反应UE活性。

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。

产品组成：

| 试剂名称 | 规格 | 保存条件 |
|-------|------------|------|
| 提取液 | 液体60mL×1瓶 | 4°C |
| 试剂一 | 粉剂×1瓶 | 4°C |
| 试剂二 | 液体10mL×1瓶 | 4°C |
| 试剂三 A | 液体1.6mL×1瓶 | 4°C |
| 试剂三 B | 液体1.6mL×1瓶 | 4°C |
| 试剂四 | 液体2mL×1瓶 | 4°C |
| 标准品 | 液体1mL×1支 | 4°C |

溶液的配制：

1. 试剂一：临用前加3mL蒸馏水充分溶解；
2. 试剂三：临用前将A液倒入B液中混合，待用；
3. 标准品：1mg/mL氮标准液。用蒸馏水稀释至2 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 备用。

需自备的仪器和用品：

可见分光光度计/酶标仪、天平、研钵/匀浆器、低温离心机、微量玻璃比色皿/96孔板、恒温水浴锅。

操作步骤：

一、样本处理（可适当调整待测样本量，具体比例可以参考文献）

1. 组织：按照质量（g）：提取液体积（mL）为1：5-10的比例（建议称取约0.1g，加入1mL提取液），冰上匀浆后于4°C，12000g离心15min，取上清待测。
2. 细胞/细菌：按照细胞/细菌数量（ 10^4 个）：提取液体积（mL）为500-1000：1的比例（建议500万个细胞加入1mL提取液），冰浴超声波破碎（功率300w，超声3s，间隔7s，总时间3min）；然后4°C，12000g离心15min，取上清置于冰上待测。
3. 血清（浆）或其它液体：直接检测。

二、测定步骤

1. 可见分光光度计/酶标仪预热30min，波长调至630nm，可见分光光度计蒸馏水调零。
2. 加样表：

| 试剂名称（ μL ） | 空白管 | 标准管 | 测定管 | 对照管 |
|-----------------------|-----|-----|-----|-----|
| 样本 | | | 20 | 20 |
| 蒸馏水 | - | | | 40 |



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司
Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话：400-611-0007 13671551480

Q Q：807961520

邮箱：saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com

| | | | | |
|---|----|----|----|----|
| 试剂一 | - | - | 40 | - |
| 试剂二 | - | - | 80 | 80 |
| 充分混匀，于37°C反应1h，于EP管中或者96孔板中加入下列溶液 | | | | |
| 反应混合液 | - | - | 80 | 80 |
| 蒸馏水 | 80 | - | | |
| 标准液 | - | 80 | | |
| 试剂三 | 16 | 16 | 16 | 16 |
| 试剂四 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| 混匀，室温静置20min | | | | |
| 蒸馏水 | 92 | 92 | 92 | 92 |
| 充分混匀后测定630nm处吸光值，记为A空白管、A标准管、A测定管和A对照管。 计算 ΔA 标准=A标准管-A空白管， ΔA 测定=A测定管-A对照管。 | | | | |

三、UE酶活计算

1. 液体中UE活力的计算：

单位的定义：每mL血清（浆）每分钟产生 $1\mu\text{g NH}_3\text{-N}$ 定义为一个酶活力单位。

$$\text{UE (U/mL)} = \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \times C_{\text{标准品}} \times V_{\text{酶促}} \div V_{\text{样}} \div T = 0.233 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}}$$

2. 组织、细菌或细胞中UE活力的计算：

(1) 按样本蛋白浓度计算：

单位的定义：每mg组织蛋白每分钟产生 $1\mu\text{g NH}_3\text{-N}$ 定义为一个酶活力单位。

$$\text{UE活力 (U/mg prot)} = \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \times C_{\text{标准品}} \times V_{\text{酶促}} \div (V_{\text{样}} \times C_{\text{pr}}) \div T = 0.233 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div C_{\text{pr}}$$

(2) 按样本质量计算：

单位的定义：每g组织每分钟产生 $1\mu\text{g NH}_3\text{-N}$ 定义为一个酶活力单位。

$$\text{UE活力 (U/g质量)} = \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \times C_{\text{标准品}} \times V_{\text{酶促}} \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{提取}}) \div T = 0.233 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div W$$

(3) 按细菌或细胞密度计算：

单位的定义：每1百万个细菌或细胞每分钟产生 $1\mu\text{g NH}_3\text{-N}$ 定义为一个酶活力单位。

$$\begin{aligned} \text{UE活力 (U/10}^6 \text{ cell)} &= \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \times C_{\text{标准品}} \times V_{\text{酶促}} \div (\text{细胞数量} \times V_{\text{样}} \div V_{\text{提取}}) \div T \\ &= 0.233 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div \text{细胞数量} \end{aligned}$$

C标准液：标准液浓度， $2\mu\text{g/mL}$ ；T：反应时间，60min；V酶促：酶促反应体系总体积，0.14mL；V样：加入反应体系中样本体积，0.02mL；V提取：提取液体积，1mL；Cpr：样本蛋白质浓度，mg/mL；W：样本质量，g；细胞数量：以百万计。

注意事项：

ΔA 测定大于0.6时，建议将反应混合液用蒸馏水稀释或者样本用蒸馏水稀释后在进行测定。



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司
 Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话：400-611-0007 13671551480

Q Q：807961520

邮箱：saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com