



脲酶(UE)试剂盒

可见分光光度法

货号: R43902-24S

产品简介:

脲酶(UE,EC 3.5.1.5) 是一种含镍的寡聚酶, 特异性地催化尿素水解释放出氨和二氧化碳。脲酶活性与有机物质含量、全氮和速效氮含量呈正相关, 反应了氮素状况。

本试剂盒利用靛酚蓝比色法测定脲酶水解尿素产生的 $\text{NH}_3\text{-N}$, 其在强碱性介质中与次氯酸盐和苯酚反应, 生成水溶性染料靛酚蓝, 其深浅与溶液中的 $\text{NH}_3\text{-N}$ 含量呈正比, 该物质在578nm有最大光吸收, 其深浅与溶液中的 $\text{NH}_3\text{-N}$ 含量呈正比, 进而得出脲酶活力大小。

测试盒组成和配制:

试剂名称	规格	保存要求	备注
提取液	液体60 mL×1瓶	4℃保存	
试剂一	液体20mL×1瓶	4℃保存	
试剂二	粉剂g×1瓶	4℃保存	用前甩几下或4℃离心使试剂落入试管底部, 再加入3mL蒸馏水, 充分溶解, 用不完的试剂4℃保存。
试剂三	液体13mL×1瓶	4℃保存	避光保存。
试剂四	液体7mL×1瓶	4℃保存	
试剂五	A:液体7mL×2瓶 B:液体μL×1支	4℃保存	临用前取60μL的B液进一瓶A液中, 混匀后作为试剂五使用。混匀后的试剂五一周内用完。
标准品	液体1m L×1支	4℃保存	若重新做标曲, 则用到该试剂。

所需的仪器和用品:

可见分光光度计、1mL 玻璃比色皿(光径1cm)、水浴锅、离心机、可调式移液器、研钵。



脲酶 (UE) 活性测定:

建议正式实验前选取2个样本做预测定, 了解本批样品情况, 熟悉实验流程, 避免实验样本和试剂浪费!

1、样本制备:

①组织样本: 称取约0.1g 组织(水分充足的样本可取0.5g), 加入 1mL 提取液, 冰浴 匀浆, 12000rpm, 4℃ 离心 10min, 取上清液待用。

【注】:若增加样本量, 可按照组织质量 (g): 提取液体积(mL)为1:5~10的比例进行提取

②细菌/细胞样本: 先收集细菌或细胞到离心管内, 离心后弃上清; 取约500万细菌或细胞加入1mL 提取液, 超声波破碎细菌或细胞(冰浴, 功率200W, 超声 3s, 间隔10s, 重复30次); 12000rpm 4℃ 离心10min, 取上清, 置冰上待测。

【注】:若增加样本量, 可按照细菌/细胞数量(10^4):提取液(mL) 为500~1000:1的比例进行提取。

③液体样本: 直接检测。若浑浊, 离心后取上清检测。

2、上机检测:

①可见分光光度计预热30min 以上, 调节波长至578nm, 蒸馏水调零。

②在EP管依次加入:

试剂名称(μL)	测定管	对照管
样本上清液	20	20
试剂一	190	190
试剂二	90	
蒸馏水		90
混匀, 放入40℃水浴锅或恒温培养箱中孵育1小时。		

③显色反应: 在EP管中依次加入:

试剂名称(μL)	测定管	对照管
②步反应混合液	60	60
蒸馏水	180	180
试剂三	240	240



试剂四	120	120
试剂五	240	240
混匀, 37℃放置20min后, 全部液体转移至1mL玻璃比色皿(光径1cm)中, 于578nm处读取吸光值A, $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}}$ (每个样本做一个自身对照)。		

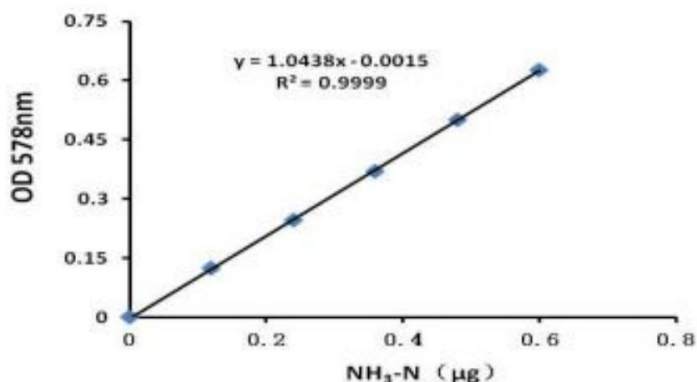
【注】1. 试剂三和四和五需分开加, 不能事先混合。

2. 若 ΔA 值较小, 可增加取样质量 W (如0.2g或更多)或在②步中增加样本加样体积V1 (如增至50 μ L, 则试剂一相应减少), 或在③步显色反应阶段增加上清液量V2 (如增至100 μ L, 则蒸馏水体积相应减少); 则改变后的W 和V1 和V2需代入计算公式重新计算。

3. 若A 测定值大于1.5, 可在③步阶段减少上清液量V2 (如减至30 μ L, 则蒸馏水体积相应增加); 或用蒸馏水稀释③步检测用到的上清液, 则改变后的V2 和稀释倍数D 需代入计算公式重新计算。

结果计算:

1、标准曲线: $y = 1.0438x - 0.0015$; x为标准品质量(μ g), y为吸光值 ΔA 。



2、按样本蛋白浓度计算:

酶活定义: 每毫克组织蛋白每分钟产生1 μ g 的 NH₃-N 定义为一个酶活力单位。

脲酶(UE)活力(μ g/min/mg prot)

$$= [(\Delta A + 0.0015) \div 1.0438] \times (V3 \div V2) \div (V1 \times Cpr) \div T \times D$$

$$= 4 \times (\Delta A + 0.0015) \div Cpr \times D$$

3、按样本鲜重计算:



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

脲酶(UE)活力($\mu\text{g}/\text{min}/\text{g}$ 鲜重)

$$=[(\Delta A + 0.0015) \div 1.0438] \times (V_3 \div V_2) \div (W \times V_1 \div V) \div T \times D$$
$$=4 \times (\Delta A + 0.0015) \div W \times D$$

4、按细胞数量计算:

酶活定义: 每 10^4 个细胞每分钟产生 $1\mu\text{g}$ 的 $\text{NH}_3\text{-N}$ 定义为一个酶活力单位。

$$\text{脲酶(UE)} (\mu\text{g}/\text{min}/10^4\text{cell}) = [(\Delta A + 0.0015) \div 1.0438] \times (V_3 \div V_2) \div (500 \times V_1 \div V) \div T \times D$$
$$=0.008 \times (\Delta A + 0.0015) \times D$$

5、按液体体积计算:

酶活定义: 每毫升液体每分钟产生 $1\mu\text{g}$ 的 $\text{NH}_3\text{-N}$ 定义为一个酶活力单位。

$$\text{脲酶(UE) 活力} (\mu\text{g}/\text{min}/\text{mL}) = [(\Delta A + 0.0015) \div 1.0438] \times (V_3 \div V_2) \div V_1 \div T \times D$$
$$=4 \times (\Delta A + 0.0015) \times D$$

V--- 提取液体积, 1mL;

V1---②步反应体系中样本加样体积, 0.02mL;

V2---③步显色阶段上清液体积, 0.06mL;

V3---② 步反应总体积, 0.3mL;

T---反应时间, 60min;

W--- 样本质量, g;

500---细胞数量;

D---稀释倍数, 未稀释即为1;

Cpr---样本蛋白质浓度, mg/mL, 建议使用本公司的BCA 蛋白含量检测试剂盒。

附: 标准曲线制作过程:

1. 把标准品母液($1\text{mg}/\text{mL}$), 用蒸馏水稀释成以下浓度梯度的标准品:

0, 2, 4, 6, 8, 10. $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。也可根据实际样本来调整标准品浓度。



上海源叶生物科技有限公司
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd
电话: 400-666-5481 传真: 021-55068248
网址: www.shyuanye.com
邮箱: 3008007435@qq.com

2. 在③步显色反应阶段，按照测定管加样表操作，依据结果即可制作标准曲线。



源叶