



精氨酸酶活性检测试剂盒
Arginase Activity Assay Kit



北京盒子生工科技有限公司
Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.



精氨酸酶活性检测试剂盒

Arginase Activity Assay Kit

一、产品描述

精氨酸酶又称 L-精氨酸尿素水解酶或 L-精氨酸脒基水解酶, 在动植物、细菌和酵母中广泛存在, 能够催化 L-精氨酸转化为尿素和鸟氨酸, 从而帮助排除体内过量的氨基酸和尿素, 在尿素循环和氮代谢中发挥重要作用, 其活性变化与氨基酸代谢、尿素循环和氮平衡等生理过程密切相关。

精氨酸酶可催化 L-精氨酸 (L-Arginine) 分解为 L-鸟氨酸 (L-Ornithine) 和尿素 (Urea), 尿素与 α -异亚硝基苯丙酮反应生成相应衍生物, 产物在 560 nm 处具有特征吸收峰, 通过吸光值变化即可表征精氨酸酶的活性。

二、产品内容

名称		试剂规格	储存条件	使用方法及注意事项
提取液	组分 A	液体 30 mL×1 瓶	4°C 保存	按照组分 A:组分 B=99:1 的体积比配制 (根据使用量现用现配)
	组分 B	液体 300 μ L×1 支	-20°C 保存	
试剂一		粉剂×1 瓶	4°C 保存	使用前加入 9.2 mL 试剂二充分溶解 (配制后 4°C 可保存 1 个月, 严禁 -20°C 保存)
试剂二		液体 10 mL×1 瓶	4°C 保存	-
试剂三		液体 25 mL×1 瓶	4°C 保存	-
试剂四		液体 36 mL×1 瓶	4°C 保存	-
试剂五		液体 15 mL×1 瓶	4°C 保存	-
标准液		液体 1 mL×1 支	4°C 保存	1000 μ mol/mL 尿素标准液
标准稀释液的制备: 将 1000 μ mol/mL 尿素标准液使用蒸馏水稀释至 50、25、12.5、6.25、3.125 μ mol/mL 即为标准稀释液。				

序号	1	2	3	4	5
稀释前浓度 (μ mol/mL)	1000	50	25	12.5	6.25
标准液体积 (μ L)	50	500	500	500	500
蒸馏水体积 (μ L)	950	500	500	500	500
稀释后浓度 (μ mol/mL)	50	25	12.5	6.25	3.125

三、产品使用说明

测定过程中所需要的仪器和试剂：可见分光光度计、1 mL 玻璃比色皿（光径 10 mm）、研钵/匀浆器、可调式移液器、台式离心机、恒温水浴或培养箱和蒸馏水。

1.粗酶液的制备（可根据预实验结果适当调整样本量及比例）

①组织：按照组织质量（g）：提取液体积（mL）为 1:（5-10）的比例（建议称取 0.1 g 组织，加入 1 mL 提取液）处理样品，冰浴匀浆，4℃ 12000 g 离心 10 min，取上清置于冰上待测。

②细菌或细胞：离心收集细菌或细胞至离心管内，按照细菌或细胞数量（ 10^4 个）：提取液体积（mL）为（500-1000）:1 的比例（建议 500 万细菌或细胞加入 1 mL 提取液）处理样品，冰浴超声破碎（功率 200 W，超声 3 s，间隔 10 s，总时间 3 min），4℃ 12000 g 离心 10 min，取上清置于冰上待测。

③培养液等液体样本：直接测定或适当稀释后再进行测定，若样本浑浊需离心后取上清测定。

2.测定步骤

①分光光度计预热 30 min 以上，调节波长至 560 nm，蒸馏水调零。

②在离心管中依次加入下列试剂（避光条件下进行）：

试剂	测定管 (μ L)	对照管 (μ L)	标准管 (μ L)	空白管 (μ L)
粗酶液	240	240	-	-
标准稀释液	-	-	240	-
蒸馏水	-	-	-	240
试剂一	120	120	120	120
试剂三	360	360	360	360
试剂四	-	480	480	480
充分混匀，37℃避光反应 30 min				
试剂四	480	-	-	-
充分混匀，8000 g 常温离心 5 min，取上清液				
上清液	1000	1000	1000	1000
试剂五	200	200	200	200
充分混匀，沸水浴避光反应 40 min，冷却至室温 8000 g 常温离心 5 min，取上清液				

注：沸水浴处理过程中注意密封以防止水分散失

吸光值测定：吸取 1 mL 上清液至 1 mL 玻璃比色皿中，测定 560 nm 处吸光值，记为 A 测定、A 对照、A 标准和 A 空白；计算 $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ ， $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}$ 。注：每个样品均需设一个对照管，空白管只需测定 1-2 次。

标准曲线的建立：以 50、25、12.5、6.25、3.125 $\mu\text{mol/mL}$ 为横坐标 (x)，以其对应的 ΔA 标准为纵坐标 (y)，绘制标准曲线，得到标准方程 $y=kx+b$ ，将 ΔA 测定带入公式中得到 x ($\mu\text{mol/mL}$)。

3.精氨酸酶活性计算

①按组织蛋白浓度计算

单位定义：每 mg 组织蛋白每分钟生成 1 μmol 尿素定义为一个酶活性单位。

$$\text{Arginase (U/mg prot)} = \frac{x}{\text{Cpr} \times T} = \frac{0.033 \times x}{\text{Cpr}}$$

②按组织样本质量计算

单位定义：每 g 组织每分钟生成 1 μmol 尿素定义为一个酶活性单位。

$$\text{Arginase (U/g)} = \frac{x \times V_{\text{样总}}}{W \times T} = \frac{0.033 \times x}{W}$$

③按细菌或细胞数量计算

单位定义：每 10^4 个细菌或细胞每分钟生成 1 μmol 尿素定义为一个酶活性单位。

$$\text{Arginase (U/10}^4\text{ cell)} = \frac{x \times V_{\text{样总}}}{\text{细菌或细胞数量} \times T} = \frac{0.033 \times x}{\text{细菌或细胞数量}}$$

④按液体样本体积计算

单位定义：每 mL 液体样本每分钟生成 1 μmol 尿素定义为一个酶活性单位。

$$\text{Arginase (U/mL)} = \frac{x \times D}{T} = 0.033 \times x$$

注释： V 样总：粗酶液总体积，1 mL；Cpr：样本蛋白浓度，mg/mL；W：样本质量，g；细菌或细胞数量：以万计；T：反应时间，30 min。

四、注意事项

①若 A 测定大于 1.2 或 ΔA 测定大于 1.0，建议将粗酶液适当稀释后再进行测定；若 ΔA 测定小于 0.02，建议适当延长酶促反应时间（第一步 37°C 反应时间）或增加样本量后再进行测定，计算时相应修改；

②为保证结果准确且避免试剂损失，测定前请仔细阅读说明书（以实际收到说明书内容为准），确认试剂储存和准备是否充分，操作步骤是否清楚，且务必取 2-3 个预期差异较大的样本进行预测定，过程中问题请您及时与工作人员联系。

For Research Use Only. Not for Use in Diagnostic Procedures.

