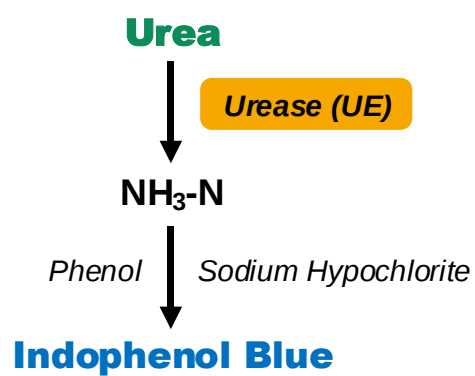




脲酶 (UE) 活性检测试剂盒
Urease (UE) Activity Assay Kit



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



脲酶（UE）活性检测试剂盒

Urease (UE) Activity Assay Kit

一、产品描述

脲酶是能够专一性催化尿素分解为铵和碳酸的含镍寡聚酶，广泛分布于植物种子中，也存在于动物血液、尿液和部分微生物中，脲酶作为一种重要的生物制剂，在农业、畜牧业、医疗、环境保护和食品安全监测等领域具有广泛应用。

脲酶水解尿素产生的 $\text{NH}_3\text{-N}$ ，在强碱性介质中能够与次氯酸盐和苯酚反应，生成水溶性蓝色染料靛酚蓝，产物在 630 nm 处具有特征吸收峰，通过吸光值的变化即可表征脲酶的活性。

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	液体 60 mL×1 瓶	4°C 保存	-
试剂一	粉剂×2 瓶	4°C 保存	使用前每瓶加入 3 mL 蒸馏水充分溶解 (现用现配，未使用试剂及时置于 4°C 保存)
试剂二	液体 10 mL×1 瓶	4°C 保存	-
试剂三	A 液	液体 1 mL×1 支	使用前将 A 液加入 B 液中充分混匀 (或按比例 A:B=1:4 现用现配，4°C 可保存一周)
	B 液	液体 4 mL×1 瓶	
试剂四	液体 0.4 mL×1 瓶	4°C 避光保存	使用前加入 2.5 mL 蒸馏水充分混匀
标准液	液体 1 mL×1 支	4°C 保存	1 mg/mL 氮标准液
标准稀释液的制备：将 1 mg/mL 氮标准液使用蒸馏水稀释至 6.0、5.0、4.0、2.0、1.0、0.5 $\mu\text{g/mL}$ 。			

序号	A	1	2	3	4	5	6
稀释前浓度 ($\mu\text{g/mL}$)	1000	100	100	100	4.0	2.0	1.0
标准液体积 (μL)	100	60	50	40	500	500	500
蒸馏水体积 (μL)	900	940	950	960	500	500	500
稀释后浓度 ($\mu\text{g/mL}$)	100	6.0	5.0	4.0	2.0	1.0	0.5

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/酶标仪、微量玻璃比色皿（光径 10 mm）/96 孔板、研钵/匀浆器、可调式移液器、台式离心机、恒温水浴/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 300 W，超声 3 s，间隔 7 s，总时间 3 min），4℃ 12000 g 离心 15 min，取上清置于冰上待测。

②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 15 min，取上清置于冰上待测。

③血液（浆）、培养液等液体样本：直接检测或适当稀释后再进行检测。

2.测定步骤

①分光光度计或酶标仪预热 30 min 以上，调节波长至 630 nm，蒸馏水调零。

②灭活酶液的制备：取适量粗酶液沸水浴处理 5-10 min（密封以防止水分散失），冷却至室温后即灭活酶液。

③在离心管中依次加入下列试剂：

试剂	测定组 (μL)	对照组 (μL)	标准组 (μL)	空白组 (μL)
粗酶液	20	-	-	-
灭活酶液	-	20	-	-
试剂一	40	40	-	-
试剂二	80	80	-	-
充分混匀，37℃准确反应 1 h，即为反应混合液				
96 孔板或微量玻璃比色皿中依次加入下列试剂				
反应混合液	80	80	-	-
标准稀释液	-	-	80	-
蒸馏水	-	-	-	80
试剂三	20	20	20	20
试剂四	20	20	20	20
充分混匀，室温显色 20 min				
蒸馏水	80	80	80	80

吸光值测定：测定 630 nm 处吸光值，记为 A 测定、A 对照、A 标准和 A 空白；计算 ΔA 测定 = A 测定 - A 对照， ΔA 标准 = A 标准 - A 空白。注：每个样品均需设一个对照组，空白组只需测定 1-2 次。

标准曲线的建立：以 6.0、5.0、4.0、2.0、1.0、0.5 $\mu\text{g/mL}$ 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 ($\mu\text{g/mL}$)。

3.脲酶（UE）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 μg $\text{NH}_3\text{-N}$ 定义为一个酶活力单位。

$$\text{UE (U/mg prot)} = \frac{x \times V_{\text{酶促}}}{\text{Cpr} \times V_{\text{样}} \times T} = \frac{0.117 \times x}{\text{Cpr}}$$

②按组织样本质量计算

单位定义：每 g 组织每分钟生成 1 μg $\text{NH}_3\text{-N}$ 定义为一个酶活力单位。

$$\text{UE (U/g)} = \frac{x \times V_{\text{酶促}} \times V_{\text{提}}}{W \times V_{\text{样}} \times T} = \frac{0.117 \times x}{W}$$

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 μg $\text{NH}_3\text{-N}$ 定义为一个酶活力单位。

$$\text{UE (U/10}^4\text{ cell)} = \frac{x \times V_{\text{酶促}} \times V_{\text{提}}}{\text{细菌或细胞数量} \times V_{\text{样}} \times T} = \frac{0.117 \times x}{\text{细菌或细胞数量}}$$

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 μg $\text{NH}_3\text{-N}$ 定义为一个酶活力单位。

$$\text{UE (U/mL)} = \frac{x \times V_{\text{酶促}}}{V_{\text{样}} \times T} = 0.117 \times x$$

注释： V 样：反应体系中加入粗酶液的体积，0.02 mL；V 提：粗酶液总体积，1 mL；V 酶促：酶促反应体系总体积，0.14 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，60 min。

四、注意事项

①若A测定超出标准吸光值线性范围：超出最高值建议将粗酶液或反应混合液适当稀释后再进行测定；低于最低值可适当增加样本量后再进行测定，计算时相应修改；

②显色完成后应在1h内完成测定，测定管颜色应与标准管颜色一致（蓝色），若显色为黄色或绿色，则表明 $\text{NH}_3\text{-N}$ 浓度过高，应将粗酶液或反应混合液适当稀释后再进行测定，计算时相应修改；

③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.

