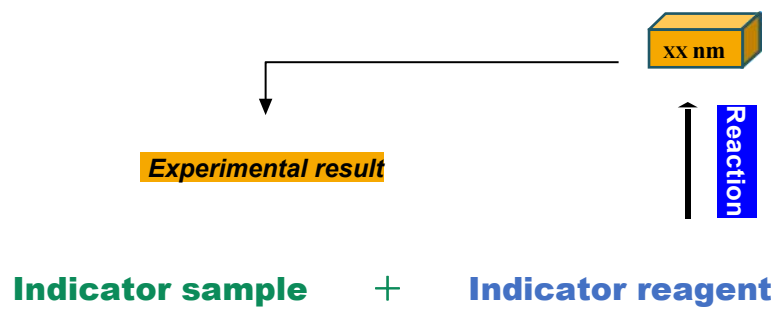


上海茁彩生物科技有限公司
Shanghai zcibio technology Co.,Ltd.



生化检测原理示意图

脲酶（UE）活性检测试剂盒说明书

可见分光光度法

注意：正式测定之前选择2-3个预期差异大的样本做预测定。

试剂的组成和配制：

种类	试剂规格	储存条件	使用方法及注意事项
提取液	液体30mL×1瓶	4℃保存	—
试剂一	粉剂×1瓶	4℃保存	临用前加6mL蒸馏水充分溶解
试剂二	液体25mL×1瓶	4℃避光保存	
试剂三 A 液	液体 1mL×1支	4℃保存	
试剂三 B 液	液体 4mL×1瓶	4℃保存	临用前将 A 液倒入 B 液中混合，待用
试剂四	液体 5mL×1瓶	4℃保存	
标准品	液体 1mL×1支	4℃保存	1mg/mL 氮标准液

产品说明：

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。

自备实验用品及仪器：

可见分光光度计、天平、研钵/匀浆器、低温离心机、1ml玻璃比色皿、恒温水浴锅。

操作步骤：

一、样品处理

- 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℃，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3 s，间隔7 s，总时间3min）；然后4℃，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、测定操作：

1、可见分光光度计预热 30min，波长调至 630nm，蒸馏水调零。

2、将 1mg/mL 氮标准液用蒸馏水稀释至 2μg/mL 备用。

3、加样表：

试剂名称 (μL)	空白管	标准管	测定管	对照管
样品	—	—	100	100
蒸馏水	—	—	—	200
试剂一	—	—	200	—
试剂二	—	—	400	400
充分混匀，于 37℃反应 1h，				
反应混合液	—	—	400	400
蒸馏水	400	—	—	—
标准液	—	400	—	—
试剂三	80	80	80	80
试剂四	60	60	60	60
混匀，室温静止 20min。				
蒸馏水	460	460	460	460
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 $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准管}} - A_{\text{空白管}}$ ， $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}}$ 。				

三、计算公式：

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1μg NH₃-N定义为一个酶活力单位。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1μg NH₃-N定义为一个酶活力单位。UE

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

$$= 0.233 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div C_{\text{pr}}$$

2. 按样本鲜重计算：

单位的定义：每g组织每分钟产生1μg NH₃-N定义为一个酶活力单位。

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

$$= 0.233 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div W$$

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1μg NH₃-N定义为一个酶活力单位。UE活

$$\text{力 } (U/10^6 \text{ cell}) = \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \times C_{\text{标准品}} \times V_{\text{酶促}} \div (\text{细胞数量} \times V_{\text{样}} \div V_{\text{提取}}) \div T$$

$$= 0.233 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div \text{细胞数量}$$

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，0.7mL；V样：加入反应体系中样本体积，0.1mL；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：

1. ΔA 测定大于1时，建议将反应混合液用蒸馏水稀释或者样品用蒸馏水稀释后再进行测定。