

# 脲酶 (UE) 检测试剂盒 (微量法)

货号: PMK1080

保存: 4°C 避光保存 12 个月

规格: 48T/96T

适用样本: 植物组织、细菌、血清 (浆)、尿液等液体样本

## 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。UE 活性与有机物质含量、全氮和速效氮含量呈正相关, 反映了氮素状况。本试剂盒提供了一种简单易用的比色法, 用于检测各种生物样本中的脲酶活性, 其原理是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。

## 产品内容

试剂盒组分	规格		储存条件
	48T	96T	
提取液	50mL	100mL	4°C 保存
试剂一	粉剂 × 1 瓶	粉剂 × 1 瓶	4°C 保存
试剂二	11mL	22mL	4°C 保存
试剂三 A 液	0. 2mL	0. 4mL	4°C, 避光保存
试剂三 B 液	0. 8mL	1. 6mL	4°C 保存
试剂四	1mL	2mL	4°C 保存
标准品	1mL	1mL	4°C 保存

## 自备耗材

酶标仪或可见光分光光度计 (能测 625nm 处的吸光值) 及恒温培养箱

96 孔板或微量玻璃比色皿、可调节式移液枪及枪头

低温离心机、制冰机

去离子水

匀浆器 (如果是组织样本)

## 试剂准备

**注意: 小管试剂开盖前, 请先低速离心。**

提取液: 即用型; 4°C 保存。

试剂一: 临用前 48T 加入 4. 5mL 去离子水, 96T 加入 9mL 去离子水, 充分溶解待用, 用不完的试剂 4°C 保存。

试剂二: 即用型; 使用前, 平衡到室温; 4°C 保存。

试剂三: 临用前将 A 液倒入 B 液中混合, 待用; 用不完的试剂 4°C 保存一周。

试剂四: 液体 2mL × 1 瓶, 4°C 保存;

标准品: 含 100  $\mu\text{g/mL}$  氮标准液。

标准曲线设置: 按下表所示用去离子水将 100  $\mu\text{g/mL}$  标准品稀释为 100、50、25、12、5、6. 25、3. 125、1. 56  $\mu\text{g/mL}$  的标准溶液。

	标准品体积	去离子水体积 ( $\mu\text{L}$ )	浓度 ( $\mu\text{g/mL}$ )
--	-------	--------------------------	-------------------------

## 产品说明书

Std. 1	400 $\mu$ L 100 $\mu$ g/mL	0	100
Std. 2	200 $\mu$ L of Std. 1 (100 $\mu$ g/mL)	200	50
Std. 3	200 $\mu$ L of Std. 2 (50 $\mu$ g/mL)	200	25
Std. 4	200 $\mu$ L of Std. 3 (25 $\mu$ g/mL)	200	12.5
Std. 5	200 $\mu$ L of Std. 4 (12.5 $\mu$ g/mL)	200	6.25
Std. 6	200 $\mu$ L of Std. 5 (6.25 $\mu$ g/mL)	200	3.125
Std. 7	200 $\mu$ L of Std. 6 (3.125 $\mu$ g/mL)	200	1.56

**注意：每次实验，请使用新配制的标准品。**

### 样本制备

组织：称取 0.1g 样本，加入 1mL 提取液，冰浴匀浆，转移到 1.5mLEP 管中。8,000g，4℃离心 10min，取上清液于新离心管中，置冰上检测。

细菌：收集 500 万细菌到离心管内，用冷 PBS 清洗，离心后弃上清，加入 1mL 提取液，冰浴超声波破碎 5min（功率 20%或 200W，超声 3s，间隔 7s，重复 30 次），转移到 1.5mL EP 管中。8,000g，4℃离心 10min，取上清液于新离心管中，置冰上检测。

血清、血浆或尿样等液体样本：直接检测。

**注意：推荐使用新鲜样本，如果不立即进行实验，样本可在-80℃保存 1 个月。如需测定蛋白浓度，推荐使用 BCA 蛋白质定量试剂盒进行样本蛋白质浓度测定。**

### 实验步骤

1. 酶标仪或可见光分光光度计预热 30min 以上，调节波长到 625nm，可见光分光光度计去离子水调零。
2. 酶促反应（在 EP 管中加入下列试剂）：

试剂名称	测定管（ $\mu$ L）	对照管（ $\mu$ L）
样本	20	20
试剂一	90	0
去离子水	0	90
试剂二	190	190

混匀，放入 37℃孵育 1h 后，10,000g 25℃离心 10min，取上清液。

3. 将上清液稀释 10 倍（取 0.1mL 上清液，加入 0.9mL 去离子水）。若最终计算得到的  $\Delta A_{625}$  仍大于 1 则继续稀释。

4. 测氨量（在 96 孔板或微量玻璃比色皿中依次加入下列试剂）：

试剂名称	空白孔（ $\mu$ L）	标准孔（ $\mu$ L）	测定孔（ $\mu$ L）	对照孔（ $\mu$ L）
稀释后的上清液	0	0	80	80
标准品	0	80	0	0
去离子水	80	0	0	0
试剂三	15	15	15	15
试剂四	15	15	15	15

充分混匀，室温放置 20min

## 产品说明书

去离子水	90	90	90	90
------	----	----	----	----

充分混匀，在 625nm 处读取吸光值。空白孔记为  $A_{空}$ ，标准孔记为  $A_{标}$ ，测定孔记为  $A_{测}$ ，对照孔记为  $A_{对}$ 。计算  $\Delta A_{测} = A_{测} - A_{对}$ ， $\Delta A_{标} = A_{标} - A_{空}$ 。每个测定需设一个对照，空白孔和标准曲线只需测定一次。

**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。 $\Delta A_{测}$  小于 0.01 可适当加大样本量。如果  $\Delta A_{测}$  大于 1.0，样本可用去离子水进一步稀释，计算结果乘以最终稀释倍数。**

### 结果计算

#### 1. 标准曲线绘制：

以标准溶液浓度 ( $\mu\text{g/mL}$ ) 为 y 轴， $\Delta A_{标}$  为 x 轴，绘制标准曲线（浓度为 y 轴更方便计算结果）。

将  $\Delta A_{测}$  代入公式计算出样本浓度 y ( $\mu\text{g/mL}$ )。

#### 2. 样本 S-UE 活性计算

##### 1) 按样本鲜重计算：

单位的定义：每 g 组织在反应体系中每分钟产生  $1 \mu\text{g NH}_3\text{-N}$  定义为一个酶活力单位 U。

UE 活力 ( $\text{U/g 鲜重}$ ) =  $y \times 10 \times V_{反总} \div (W \times V_{样} \div V_{样总}) \div T = 2.5y \div W$

##### 2) 按液体样本体积计算：

单位的定义：每 mL 液体样本在反应体系中每分钟产生  $1 \mu\text{g NH}_3\text{-N}$  定义为一个酶活力单位 U。

UE 活力 ( $\text{U/mL}$ ) =  $y \times 10 \times V_{反总} \div V_{样} \div T = 2.5y$

##### 3) 按细菌数量计算：

单位的定义：每 1 万个细菌在反应体系中每分钟产生  $1 \mu\text{g NH}_3\text{-N}$  定义为一个酶活力单位 U。

UE 活力 ( $\text{U}/10^4 \text{ cell}$ ) =  $y \times 10 \times V_{反总} \div (500 \times V_{样} \div V_{样总}) \div T = 0.005y$

##### 4) 按样本蛋白浓度计算：

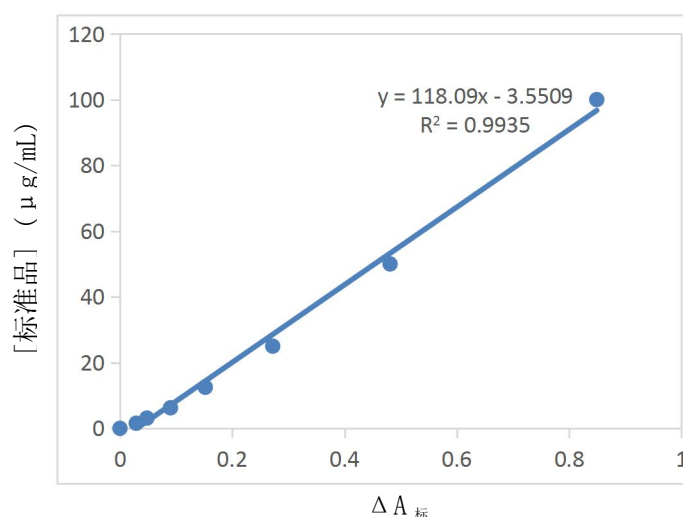
单位的定义：每 mg 组织蛋白在反应体系中每分钟产生  $1 \mu\text{g NH}_3\text{-N}$  定义为一个酶活力单位。

UE 活力 ( $\text{U/mg prot}$ ) =  $y \times 10 \times V_{反总} \div (Cpr \times V_{样}) \div T = 2.5y \div Cpr$

10: 样本检测时的稀释倍数；  $V_{反总}$ : 反应体系总体积：0.3mL；  $V_{样}$ : 加入反应体系中样本体积，0.02mL；  $V_{样总}$ : 加入提取液体积，1mL； T: 反应时间，60min； W: 样本质量，g； 500: 细菌或细胞总数，500 万； Cpr: 样本蛋白质浓度，mg/mL。

### 结果展示

典型标准曲线-以下数据和曲线仅供参考，实验者需根据自己的实验建立标准曲线



### 注意事项

1. 实验过程中请穿戴实验服、口罩和乳胶手套。请按照生物实验室的国家安全规定进行实验，尤其是在检测血样或其他体液时。
2. 本试剂盒仅用于实验室科学研究，如果本试剂盒用于临床诊断或任何其他用途，我们将不对任何后果负责。
3. 本试剂盒应在有效期内使用，并请严格按照说明书进行存储。

## 产品说明书

4. 不同批次号、不同厂家之间的组分不要混用；否则，可能导致结果异常。
5. 勤换吸头，避免各组分之间的交叉污染。

### 相关产品：

- PMK1819 土壤脲酶 (S-UE) 检测试剂盒 (微量法)
- PMK1069 硝酸还原酶(NR) 检测试剂盒 (NADH 速率法/微量法)
- PMK1071 谷氨酸合成酶 (GOGAT) 检测试剂盒 (微量法)
- PMK1073 谷氨酸脱氢酶 (GDH) 检测试剂盒 (微量法)
- PMK1078 植物铵态氮检测试剂盒 (微量法)
- PMK1866 土壤铵态氮检测试剂盒 (微量法)
- PMK1825 土壤硝酸还原酶 (S-NR) 检测试剂盒 (微量法)
- PMK1833 土壤亚硝酸还原酶(S-NiR) 检测试剂盒 (微量法)



更多产品详情了解，请关注公众号：