

脲酶（UE）活性检测试剂盒说明书

可见分光光度法

货号：BC4110

规格：50T/24S

产品组成：使用前请认真核对试剂体积与瓶内体积是否一致，有疑问请及时联系索莱宝工作人员。

试剂名称	规格	保存条件
提取液	液体 30 mL×1 瓶	4℃保存
试剂一	粉剂×1 瓶	4℃保存
试剂二	液体 25 mL×1 瓶	4℃保存
试剂三 A	液体 1 mL×1 支	4℃保存
试剂三 B	液体 4 mL×1 瓶	4℃保存
试剂四	液体 5 mL×1 瓶	4℃保存
标准品	液体 1 mL×1 支	4℃保存

溶液的配制：

- 1、试剂一：临用前加 6mL 蒸馏水充分溶解；
- 2、试剂三：临用前将 A 液倒入 B 液中混合，待用；
- 3、标准品：1mg/mL 氮标准液。用蒸馏水稀释至 2 μ g/mL 备用。

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NH₃-N来反应UE活性。

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。如果样本吸光值不在测量范围内建议稀释或者增加样本量进行检测。

需自备的仪器和用品：

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、样本处理（可适当调整待测样本量，具体比例可以参考文献）

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（10⁴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、测定步骤

1、可见分光光度计预热30min，波长调至630nm，蒸馏水调零。

2、加样表：

试剂名称 (μL)	空白管	标准管	测定管	对照管
样本	-	-	100	100
蒸馏水	-	-	-	200
试剂一	-	-	200	-
试剂二	-	-	400	400
充分混匀，于37°C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，室温静置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 ΔA 标准=A 标准管-A 空白管， ΔA 测定=A 测定管-A 对照管。				

三、UE酶活计算

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。

$$\text{UE活力 (U/mL)} = \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \times C_{\text{标准品}} \times V_{\text{酶促}} \div V_{\text{样}} \div T = 0.233 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}}$$

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。

$$\text{UE活力 (U/mg prot)} = \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \times C_{\text{标准品}} \times V_{\text{酶促}} \div (V_{\text{样}} \times C_{\text{pr}}) \div T = 0.233 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div C_{\text{pr}}$$

(2) 按样本质量计算：

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。

$$\text{UE活力 (U/g 质量)} = \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \times C_{\text{标准品}} \times V_{\text{酶促}} \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{提取}}) \div T = 0.233 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div W$$

(3) 按细菌或细胞数量计算：

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。

$$\begin{aligned} \text{UE活力 (U/10}^6 \text{ cell)} &= \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \times C_{\text{标准品}} \times V_{\text{酶促}} \div (\text{细胞数量} \times V_{\text{样}} \div V_{\text{提取}}) \div T \\ &= 0.233 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div \text{细胞数量} \end{aligned}$$

C标准液：标准液浓度，2 μg/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：

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

实验实例：

- 1、取 0.1g 绿豆加入 1mL 提取液进行样本处理，取上清后按照测定步骤操作，测得计算 $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}} = 0.221 - 0.102 = 0.119$ ， $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准管}} - A_{\text{空白管}} = 0.342 - 0.005 = 0.337$ ，按样本质量计算酶活得：
UE 活力 (U/g 质量) $= 0.233 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div W = 0.233 \times 0.119 \div 0.337 \div 0.1 = 0.8228$ U/g 质量。
- 2、取 0.1g 肾脏加入 1mL 提取液进行样本处理，取上清后按照测定步骤操作，测得计算 $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}} = 0.315 - 0.226 = 0.089$ ， $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准管}} - A_{\text{空白管}} = 0.342 - 0.005 = 0.337$ ，按样本质量计算酶活得：
UE 活力 (U/g 质量) $= 0.233 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div W = 0.233 \times 0.089 \div 0.337 \div 0.1 = 0.6153$ U/g 质量。
- 3、取火鸡血清 100 μ L 直接按照测定步骤操作，测定计算测得计算 $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}} = 0.210 - 0.125 = 0.085$ ， $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准管}} - A_{\text{空白管}} = 0.342 - 0.005 = 0.337$ ，按液体体积计算得
UE 活力 (U/mL) $= 0.233 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} = 0.233 \times 0.085 \div 0.337 = 0.0588$ U/mL。

相关系列产品：

- BC0080/BC0085 硝酸还原酶 (NR) 活性检测试剂盒
- BC1450/BC1455 谷氨酰胺酶 (GLS) 活性检测试剂盒
- BC1460/BC1465 谷氨酸脱氢酶 (GDH) 活性检测试剂盒

