

脲酶（UE）检测试剂盒（微量法）

货号：PMK1080

保存：4℃避光保存 12 个月

规格：48T/24S 96T/48S

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℃ 保存
试剂一	粉剂×1 瓶	粉剂×1 瓶	4℃ 保存
试剂二	11mL	22mL	4℃ 保存
试剂三 A 液	0. 2mL	0. 4mL	4℃，避光保存
试剂三 B 液	0. 8mL	1. 6mL	4℃ 保存
试剂四	1mL	2mL	4℃ 保存
标准品	1mL	1mL	4℃ 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℃ 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℃ 保存。

试剂二：即用型；使用前，平衡到室温；4℃ 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℃ 保存一周。

试剂四：即用型；使用前，平衡到室温；4℃ 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 (μL)	浓度 ($\mu\text{g/mL}$)
--	-------	--------------------------	-------------------------

Std. 1	400μL 100 μg/mL	0	100
Std. 2	200μL of Std. 1 (100 μg/mL)	200	50
Std. 3	200μL of Std. 2 (50 μg/mL)	200	25
Std. 4	200μL of Std. 3 (25 μg/mL)	200	12.5
Std. 5	200μL of Std. 4 (12.5 μg/mL)	200	6.25
Std. 6	200μL of Std. 5 (6.25 μg/mL)	200	3.125
Std. 7	200μL of Std. 6 (3.125 μg/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（μL）	对照管（μL）
样本	20	20
试剂一	90	0
去离子水	0	90
试剂二	210	210

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 ΔA_{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（μL）	标准孔（μL）	测定孔（μL）	对照孔（μL）
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 $A_{\text{空}}$ ，标准孔记为 $A_{\text{标}}$ ，测定孔记为 $A_{\text{测}}$ ，对照孔记为 $A_{\text{对}}$ 。计算 $\Delta A_{\text{测}} = A_{\text{测}} - A_{\text{对}}$ ， $\Delta A_{\text{标}} = A_{\text{标}} - A_{\text{空}}$ 。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。 $\Delta A_{\text{测}}$ 小于 0.01 可适当加大样本量。如果 $\Delta A_{\text{测}}$ 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， $\Delta A_{\text{标}}$ 为 x 轴，绘制标准曲线（浓度为 y 轴更方便计算结果）。

将 $\Delta A_{\text{测}}$ 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 (U/g 鲜重) = $y \times \text{稀释倍数} \times V_{\text{反总}} \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 10.67y \div W$

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 (U/mL) = $y \times \text{稀释倍数} \times V_{\text{反总}} \div V_{\text{样}} \div T = 10.67y$

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 ($\text{U}/10^4 \text{ cell}$) = $y \times \text{稀释倍数} \times V_{\text{反总}} \div (500 \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 0.021y$

4) 按样本蛋白浓度计算：

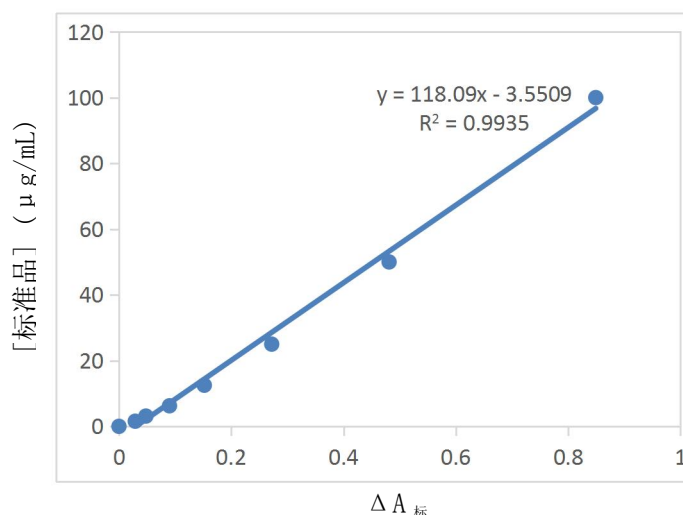
单位的定义：每 mg 组织蛋白在反应体系中每分钟产生 $1 \mu\text{g NH}_3\text{-N}$ 定义为一个酶活力单位。

UE 活力 (U/mg prot) = $y \times \text{稀释倍数} \times V_{\text{反总}} \div (C_{\text{pr}} \times V_{\text{样}}) \div T = 10.67y \div C_{\text{pr}}$

稀释倍数：样本检测时的稀释倍数， $(20+90+210) \div 80 \times 10 = 40$ ； $V_{\text{反总}}$ ：反应体系总体积：0.32mL； $V_{\text{样}}$ ：加入反应体系中样本体积，0.02mL； $V_{\text{样总}}$ ：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； C_{pr} ：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

- 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。
- 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。
- 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：