

CheKine™ 脲酶 (UE) 活性检测试剂盒 (微量法)

货号: KTB3070

规格: 48 T/48 S 96 T/96 S

批号: 见产品标签

	适用样本: 动植物组织、细胞、细菌、血清 (浆)
	保质期: 4℃, 避光保存 12 个月

01 背景与原理

脲酶 (UE, EC 3.5.1.5) 能够水解尿素, 产生氨和碳酸。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。

本试剂盒检测原理是利用靛酚蓝比色法测定脲酶水解尿素产生的 $\text{NH}_3\text{-N}$, 在 630 nm 处有特征吸收峰。

02 包装清单

试剂盒组分	规格		储存要求
	48 T	96 T	
Extraction Solution	70 mL	70×2 mL	4℃
Reagent I	Powder×1 vial	Powder×1 vial	4℃
Reagent II	25 mL	50 mL	4℃
Reagent III A	0.4 mL	0.8 mL	4℃
Reagent III B	1.6 mL	3.2 mL	4℃
Reagent IV	2 mL	4 mL	4℃, 避光保存
Standard	0.2 mL	0.4 mL	4℃

*请在实验前检查各组分的量。

*各组分在规格基础上额外提供 10% 的量用于进行标准曲线制作或预实验。

03 自备仪器与试剂

自备资源类型	资源名称	备注
仪器	酶标仪	能测 630 nm 处的吸光度
耗材	96 孔酶标板	普通透明板
试剂	PBS、去离子水	清洗样本/配制试剂用
其他	匀浆器（组织样本）、恒温箱、低温离心机、可调节式移液枪及枪头	检测量较大时合理使用多通道移液器有助于提高实验效率

04 注意事项

- 正式检测前，建议选择 2-3 个预期差异较大的样本进行预实验。
- 对于组织样本及细胞样本等，可通过测定蛋白浓度来进行样本间结果均一化。推荐使用亚科因货号：KTD3001 的蛋白质定量试剂盒（BCA 法）。
- 本试剂盒兼容分光光度计检测，请按照分光光度计检测要求按比例调节检测试剂配制量。如有疑问，可咨询本司技术人员（400-6800-830）。
- 建议实验者自行建立标准曲线以提高结果准确度。如未自行建立标准曲线，可参考结果展示部分的典型标准曲线公式进行结果计算。
- 生化检测试剂普遍具有刺激性、生物毒性等，为了您的安全和健康，请在实验全程做好生物安全防护，穿戴实验服、口罩、手套、头套等安全护具，在通风橱、生物安全柜中进行实验。
- 本产品仅供科学研究使用，不适用于临床诊断。

05 实验流程

05-1 试剂准备

05-1-1 试剂准备

试剂名称	试剂准备	注意事项
Extraction Solution	即用型；使用前平衡到室温	4℃保存
Working Reagent I	临用前配制；48 T 加入 9 mL 去离子水，96 T 加入 18 mL 去离子水，充分溶解待用	4℃保存
Reagent II	即用型；使用前平衡到室温	4℃保存
Working Reagent III	临用前配制；将 A 液倒入 B 液中混合，混匀待用	4℃保存 1 周；有毒且有刺激性气味，建议在通风橱进行实验
Reagent IV	即用型；使用前平衡到室温	4℃避光保存
Standard	1 M 标准液，即用型；使用前平衡到室温	4℃保存

05-1-2 标准品配制

用 Extraction Solution 将 1 M NH₄Cl Standard 稀释成 1 mM，使用 1 mM 标准液，按照下表所示，进一步稀释标准品。每次实验都要做一次标准品检测，制作标曲；稀释后的标准品溶液不稳定，必须在 4 小时内使用。

序号	标准品 (μL)	Extraction Solution (μL)	浓度 (μM)
1	200 μL of 1 mM	0	1000
2	100 μL of 1000 μM	100	500
3	100 μL of 500 μM	100	250
4	100 μL of 250 μM	100	125
5	100 μL of 125 μM	100	62.5
6	100 μL of 62.5 μM	100	31.25
7	100 μL of 31.25 μM	100	15.625
空白	0	100	0

05-2 样本制备

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。

- **动植物组织**：称取约 0.1 g 组织样本，加入 1 mL Extraction Solution，冰浴匀浆，8000 g，4℃离心 10 min，取上清，置冰上待测。
- **细胞或细菌**：收集 5×10⁶ 个细胞或细菌，用冷 PBS 清洗细胞或细菌，800 g 离心 2 min，弃上清液。加入 1 mL Extraction Solution，冰浴超声波破碎细胞或细菌 5 min（功率 20%或 200 W，超声 3 s，间隔 7 s，重复 30 次），8000 g，4℃离心 10 min，取上清，置冰上待测。
- **血清（浆）**：直接测定。

05-3 实验步骤

1. **酶标仪准备**：预热 30 min 以上，调节波长到 630 nm。

2. **酶促反应**：在 1.5 mL EP 管中按照如下方式操作：

试剂	测定管 (μL)	对照管 (μL)
样本	20	20
Working Reagent I	90	0
去离子水	0	90
Reagent II	190	190

3. 混匀，放入 37℃水浴 1 h 后，10000 g，25℃离心 10 min，取上清液。将上清液稀释 10 倍（取 0.1 mL 上清液，加入 0.9 mL 去离子水）。

4. 测氨量：在 96 孔板中按照如下方式操作：（空白孔和标准孔只需测定 1 次）

试剂	测定孔 (μL)	对照孔 (μL)	标准孔 (μL)	空白孔 (μL)
稀释后的上清液	80	80	0	0
Standard	0	0	80	0
去离子水	0	0	0	80
Working Reagent III	15	15	15	15
Reagent IV	15	15	15	15
充分混匀，室温 (25℃) 放置 20 min				
去离子水	90	90	90	90

5. 吸光度检测：迅速混匀，于 630 nm 处测定吸光值，分别记为 $A_{\text{测定}}$ 、 $A_{\text{对照}}$ 、 $A_{\text{标准}}$ 和 $A_{\text{空白}}$ 。

06 结果计算

06-1 自动计算

为帮助您更轻松、准确地完成相关计算，我们特在官网提供了“在线计算器小工具”。您无需手动计算，只需在网页上输入数值，即可快速获得可靠结果。访问方式：请扫描右侧二维码或访问官网[\[https://www.abbkine.cn\]](https://www.abbkine.cn)>进入“技术中心”>查找“在线计算器”工具。



06-2 手动计算

以下为您提供的推导过程计算公式和简洁计算公式，两者完全相等。

1. 数据处理

计算 $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ ， $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}$ 。

2. 标准曲线绘制

以标准品浓度为 y 轴， $\Delta A_{\text{标准}}$ 为 x 轴，绘制标准曲线。将 $\Delta A_{\text{测定}}$ 代入方程得到 y 值 (μM)。

3. UE 活性的计算：

● 按样本质量计算：

单位的定义：每 g 组织每分钟产生 1 μmol 的 NH₃-N 定义为一个酶活力单位。

$$UE (U/g) = y \times (V_{\text{反总}} \div V_{\text{样}}) \times 10 \times V_{\text{样总}} \div T \div 1000 \div W = 0.0025y \div W$$

● 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 1 μmol 的 NH₃-N 定义为一个酶活力单位。

$$UE (U/mg \text{ prot}) = y \times (V_{\text{反总}} \div V_{\text{样}}) \times 10 \div T \div 1000 \div Cpr = 0.0025y \div Cpr$$

● 按细胞或细菌数量计算：

单位的定义：每 10⁶ 个细胞或细菌每分钟产生 1 μmol 的 NH₃-N 定义为一个酶活力单位。

$$UE (U/10^6) = y \times (V_{\text{反总}} \div V_{\text{样}}) \times 10 \times V_{\text{样总}} \div T \div 1000 \div N = 0.0025y \div N$$

● 按血清（浆）体积计算：

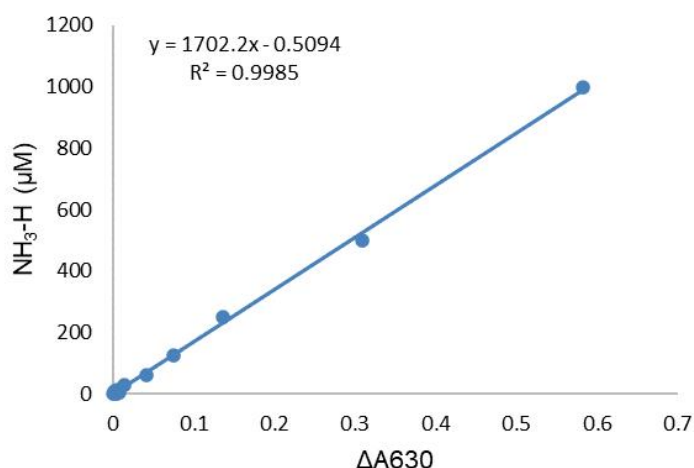
单位的定义：每 mL 血清（浆）每分钟产生 1 μmol 的 NH₃-N 定义为一个酶活力单位。

$$UE (U/mL) = y \times (V_{\text{反总}} \div V_{\text{样}}) \times 10 \div T \div 1000 = 0.0025y$$

$V_{\text{反总}}$ ：反应体系总体积，0.3 mL； $V_{\text{样}}$ ：加入样本体积，0.02 mL；T：反应时间，60 min；1000：单位换算系数，1 L=1000 mL；Cpr：蛋白浓度，mg/mL；10：稀释倍数； $V_{\text{样总}}$ ：Extraction Solution 体积，1 mL；W：样本质量，g；N：细胞或细菌数量，以 10⁶ 为单位（例如细菌数量为 5×10^6 ，N=5）。

07 结果展示

典型标准曲线：



示例-1: 取 0.1 g 小鼠肝脏使用 96 孔板测得计算 $\Delta A_{\text{测定}} = 0.206 - 0.09 = 0.116$ ，代入方程得 $y = 196.95$ ，按样本质量计算得：UE (U/g) = $0.0025 \times 196.95 \div 0.1 = 4.924$ U/g。

示例-2: 取 10^6 Jurkat 细胞使用 96 孔板测得计算 $\Delta A_{\text{测定}} = 0.110 - 0.044 = 0.066$ ，代入方程得 $y = 111.84$ ，按细胞数量计算得：UE (U/ 10^6) = $0.0025 \times 111.753 \div 5 = 0.056$ U/ 10^6 。

示例-3: 取 20 μL 牛血清使用 96 孔板测得计算 $\Delta A_{\text{测定}} = 0.210 - 0.093 = 0.117$ ，代入方程得 $y = 198.65$ ，按液体体积计算得：UE (U/mL) = $0.0025 \times 198.689 = 0.497$ U/mL。

08 FAQ

● 检测得到的样本 $\Delta A_{\text{测定}}$ 过高或者过低怎么办？

如果样本 $\Delta A_{\text{测定}} > 0.6$ ，样本需用 Extraction Solution 适当稀释或减少提取用样本量，重新进行测定。如果样本的 $\Delta A_{\text{测定}} < 0.001$ ，可适当提高样本量。

09 相关产品

货号	试剂盒名称
KTB3040	CheKine™ 谷氨酸合成酶（GOGAT）活性检测试剂盒（微量法）
KTB3041	CheKine™ 谷氨酸脱氢酶（GDH）活性检测试剂盒（微量法）
KTB3050	CheKine™ 水土中亚硝酸盐含量检测试剂盒（微量法）
KTB3051	CheKine™ 食品中亚硝酸盐含量检测试剂盒（微量法）

CheKine™ 脲酶 (UE) 活性检测流程示意图

(Abbkine 货号：KTB3070)

