脲酶（UE）活性检测试剂盒说明书

规格：96 样　　方法：酶标仪法

一、注意事项

1. 使用前请通读一遍说明书再开始实验。
2. 正式检测前选取 2~3 个样本进行预检测。
3. 本试剂盒仅用于科研。

二、产品组分

试剂名称	试剂规格	保存条件	备注
提取液	105 mL×1	4℃	
试剂一	粉剂×1	4℃	临用前加入 9 mL 蒸馏水，充分溶解待用，用不完的 4℃保存。
试剂二	44 mL×1	4℃	
试剂三	A 液：804 μL×1 B 液：3.2 mL×1	4℃	临用前将 A 液全部倒入 B 液中混合，待用；用不完的试剂 4℃保存一周
试剂四	1.6 mL×2	4℃避光	

三、仪器和用品

酶标仪、96 孔板、移液器、天平、可降温离心机、超纯水/蒸馏水、研磨仪/研钵、冰、水浴锅。

四、样品制备

1. 组织：按照组织质量（g）：提取液体积（mL）为 1：5~10 的比例（建议称取约 0.1 g 组织，加入 1 mL 提取液），进行冰浴匀浆。8000 g，4℃离心 10 min，置于冰上，上清为待测液。

2. 细菌/细胞：提取液体积（mL）为 500~1000：1 的比例（建议 500 万细菌/细胞加入 1 mL 提取液），冰浴超声波破碎细菌/细胞（功率 200 W，超声 3 秒，间隔 10 s，重复 30 次）；然后 8000 g，4℃，离心 10 min，置于冰上，上清为待测液。

3. 液体样本：澄清的液体的样本直接测定，若浑浊则离心后取上清液检测。

五、测定步骤

1. 酶标仪预热 30 min 以上，波长调至 578 nm 处。
2. 在 1.5 mL 离心管中依次加入

	测定管	对照管
样本（μL）	20	20
试剂一（μL）	90	-
超纯水/蒸馏水（μL）	-	90
试剂二（μL）	190	190
混匀，放入 37℃水浴 1 h 后，10000 g ，常温离心 10 min，取上清液。		

3. 将上清液稀释 10 倍（取 0.1 mL 上清液，加入 0.9 mL 超纯水/蒸馏水）。

4. 测氨量（在 96 孔板中加入下列试剂）

	测定管	对照管
稀释后的上清液（μL）	80	80
试剂三（μL）	15	15
试剂四（μL）	15	15
充分混匀，室温放置 20 min		
超纯水/蒸馏水（μL）	90	90
混匀，于 578 nm 处读吸光值，记作 A 测定、A 对照，计算ΔA=A 测定-A 对照。每个测定管设一个对照管。		

六、计算

标准方程

标准条件下测得回归方程为：y=0.04575x+0.0373，R^2=0.9984；x 为标准品浓度，（μg/mL），y 为吸光值 A。

1. 按样本重量计算

单位的定义：每 g 组织每分钟产生 1 μg NH_3-N 定义为一个酶活力单位。

脲酶活性（μg/min/g 鲜重）=（ΔA-0.0373）÷0.04575×10×V 反总÷（W×V 样÷V 样总）÷T=54.64×（ΔA-0.0373）÷W

2. 按细菌/细胞数量计算

单位的定义：每1万个细菌或细胞每分钟产生1 μg NH_3-N定义为一个酶活力单位

脲酶活性（μg/min/10^4 cell）=（ΔA-0.0373）÷0.04575×10×V 反总÷（N×V 样÷V 样总）÷T=54.64×（ΔA-0.0373）÷N

3. 按样本体积计算

单位的定义：每mL液体样本每分钟产生1 μg NH_3-N定义为一个酶活力单位。

脲酶活性（μg/min/mL）=（ΔA-0.0373）÷0.04575×10×V反总÷V样÷T

=54.64×（ΔA-0.0373）

4. 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 μg NH_3-N定义为一个酶活力单位。

脲酶活性（μg/min/mg prot）=（ΔA-0.0373）÷0.04575×10×V反总÷（V样×Cpr）÷T=54.64×（ΔA-0.0373）÷Cpr

10：稀释倍数；T：反应时间，60 min；V 反总：反应体系总体积：0.3 mL；V样：加入反应体系中样本体积，0.02 mL；V样总：提取液体积，1 mL；Cpr：样本蛋白质浓度，mg/mL；W：样本质量，g；N：细胞/细菌总数，万个。

七、产品简介

脲酶是植物和微生物体内催化尿素水解的关键酶。主要功能是催化尿素分解为氨和二氧化碳，是植物体内氮素再利用和尿素代谢的核心酶，参与种皮中尿素的降解以释放氮源供胚萌发利用，同时在植物对外源尿素肥料的吸收同化过程中发挥关键作用，此外在氮素代谢的终产物回收利用和氮素平衡调控中具有重要地位，是评价植物氮素再利用效率、脲氮代谢活性及氨毒解除能力的重要酶学指标。