

脲酶活性检测试剂盒 (50T)

一般说明

脲酶是一种催化尿素水解成二氧化碳和氨的酶。脲酶存在于细菌、酵母和某些高等植物物种中。脲酶活性存在于环境和粪便样品中；许多胃肠道或泌尿道病原体会产生脲酶。因此，它的活性对于病原体如幽门螺杆菌是有用的诊断参数。脲酶活性通常在牛瘤胃、人类粪便和环境样品（如土壤和浮游植物）的厌氧菌中测定。检测原理是：脲酶与尿素反应，产生的颜色变化在 670 nm处测定，该检测方法简单、灵敏、稳定且高通量，可量化低至 0.01 U/L 的脲酶活性。

适用性

生物和环境样品中的脲酶活性测定。

试剂盒规格

缓冲液：10 mL (pH 7.0) 试剂 A：6 mL

尿 素：1.5 mL 试剂 B：3 mL

NH₄Cl：100 μL 50 mM

储存：试剂和标准品均在 4°C 下保存。

检测步骤：

注意：已知氨会干扰该分析，在分析之前，应通过透析或过滤去除。

1. 测定准备。在测定之前，将所有组分置于室温。对于标准曲线，通过混合 5μL 50 mM NH₄Cl 和 495μL缓冲液制备 500μM 预混液。如下稀释NH₄Cl。

标号	预混液 + 缓冲液	终量(μL)	(μM)
1	100μL + 0μL	100	500
2	80μL + 20μL	100	400
3	60μL + 40μL	100	300
4	40μL + 60μL	100	200
5	30μL + 70μL	100	150
6	20μL + 80μL	100	100
7	10μL + 90μL	100	50
8	0μL + 100μL	100	0

分别转移90μL到透明平底 96 孔板的单独孔中。

对于样品，用缓冲液稀释样品（注意：谨慎测试不同的稀释度以确保脲酶活性在检测范围内）。将 90μL样品转移到单独的孔中。另需使用90μL酶缓冲液作为样品空白对照。

2. 酶反应。向每个孔中加入10μL尿素。在所需温度下孵育10分钟。

3. 检测。向每个孔中加入100μL试剂A。轻敲孔板混合。然后在每个孔中加入50μL试剂B。轻敲孔板再次混合。注意：添加试剂 A 终止脲酶反应。

在黑暗中孵育 30 分钟。在 670nm 处读取吸光强度。





NSM050

计算

绘制 NH₄Cl 标准曲线并确定其斜率 (μM^{-1})。样品中的脲酶活性计算为:

$$\text{脲酶活性} = \frac{\text{OD}_{\text{样本}} - \text{OD}_{\text{空白}}}{\text{Slope} \times t} \quad (\text{U/L})$$

其中 OD_{样本}和 OD_{空白}是样品和样品空白（酶缓冲液）测得的 OD 值。t 是标准脲酶测定的孵育时间（10 分钟）。如果脲酶活性高于 25 U/L，在缓冲液中稀释酶，重复测定并将计算的活性乘以稀释因子。

单位定义：在测定条件下，在 pH 7.0 的条件下，1 个单位的脲酶每分钟催化形成 1 μmole 氨。

说明

可以使用任何既定方法在缓冲液（10 mM 磷酸钠，pH 7.0）中提取土壤和其他环境样品。对于低脲酶活性样品，在 30 或 37° C 下孵育脲酶反应 2 至 4 小时（步骤 2）。土壤样品可能含有非常低浓度的氨。为了校正样品氨，在即将检测（步骤 3）之前，通过按以下顺序混合以下物质来制备样品空白：100 μL 试剂 A、90 μL 样品提取物、10 μL 尿素和 50 μL 试剂 B。

预防措施

本产品仅供研究用，使用过程中应严格遵循实验安全措施。

