

## 精氨酸酶活性检测试剂盒（微量法）

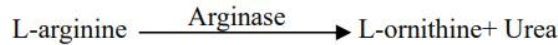
产品货号：BA2156

产品规格：100T/48S

### 产品简介：

精氨酸酶（Arginase）又称L-精氨酸尿素水解酶或 L-精氨酸脒基水解酶，是一种锰金属酶。精氨酸酶存在于细菌、酵母、植物、无脊椎动物和脊椎动物中，并被认为最早出现在细菌中。微生物体内的精氨酸酶其主要功能可能是参与维持L-精氨酸的动态平衡，并参与调控多种重要代谢过程。

精氨酸酶将L-精氨酸（L-arginine）分解为L-鸟氨酸（L-ornithine）和尿素（urea），尿素与 $\alpha$ -异亚硝基苯丙酮反应生成560nm处存在吸收峰的衍生物，通过测定尿素的生成量，可计算得到精氨酸酶活性大小。



### 产品组成：

试剂名称	规格	保存条件
提取液一	液体60mL×1瓶	2-8℃
提取液二	液体0.6mL×1支	-20℃
试剂一	粉剂×1瓶	2-8℃
试剂二	液体4mL×1瓶	2-8℃
试剂三	液体10mL×1瓶	2-8℃
试剂四	液体13mL×1瓶	2-8℃
试剂五	液体5.5mL×1瓶	2-8℃
标准品	液体1ml×1支	2-8℃

### 溶液的配制：

1. 提取液二和试剂五为易挥发试剂，用完及时拧盖封口。
2. 提取液的配制：按提取液一：提取液二=990 $\mu$ L：10 $\mu$ L（1T）的比例配制，根据样本量现配现用，禁止将提取液二一次性全部加入提取液一中。
3. 试剂一：临用前加入3.2mL试剂二，充分溶解，请勿放置于-20℃保存。2-8℃可保存4周。
4. 标准品：1mol/L（即 1000 $\mu$ mol/mL）尿素标准液。

### 需自备的仪器和用品：

可见分光光度计/酶标仪、低温离心机、分析天平、水浴锅/恒温培养箱、可调式移液器、微量玻璃比色皿/96孔板、研钵/匀浆器/超声破碎仪、蒸馏水和冰。

### 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：按照组织质量（g）：提取液体积（mL）为 1：5~10 的比例（建议称取约 0.1g 组织，加入 1mL 提取液），进行冰浴匀浆。8000g 4℃离心 20min，取上清，置冰上待测。
2. 细菌或培养细胞：先收集细菌或细胞到离心管内，离心后弃上清；按照细菌或细胞数量（ $10^4$ 个）：提取液体积（mL）为 500~1000：1 的比例（建议 500 万细菌或细胞加入 1mL 提取液），超声波破碎细菌或细胞（冰浴，功率 200W，超声 3s，间隔 10s，重复 30 次）；12000g 4℃离心 20min，取上清，置冰上待测。

#### 二、测定步骤

1. 可见分光光度计/酶标仪预热 30min 以上，调节波长至 560nm，可见分光光度计用蒸馏水调零。
2. 标准溶液的制备：将标准品用蒸馏水分别稀释为 50、25、12.5、6.25、3.125  $\mu$ mol/mL 的标准溶液。
3. 标准品稀释表：



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q：807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com

序号	稀释前浓度(μmol/mL)	标准液体积 (μL)	蒸馏水体积 (μL)	稀释后浓度 (μmol/mL)
1	1000	100	1900	50
2	50	500	500	25
3	25	500	500	12.5
4	12.5	500	500	6.25
5	6.25	500	500	3.125

实验中每个标准管需 48μL 标准溶液。

4. 在 1.5mLEP 管中按下表步骤加样：

试剂名称 (μL)	测定管	对照管	标准管	标准空白管
样本	48	48	-	-
标准品	-	-	48	-
蒸馏水	-	-	-	48
试剂一	24	24	24	24
试剂三	72	72	72	72
试剂四	-	96	96	96
37°C 避光反应 30min				
试剂四	96	-	-	-
8000g 常温离心 5min, 另取一支 1.5mLEP, 吸取 200μL 上清液于 EP 管中				
上清液	200	200	200	200
试剂五	40	40	40	40
沸水浴避光反应 40min, 冰水冷却, 8000g 常温离心 5min, 吸取上清 200 μL 上清液于微量玻璃比色皿/96 孔板中, 测定在 560nm 处的吸光度, 记作 A 测定, A 对照, A 标准, A 标准空白。 ΔA 测定=A 测定-A 对照, ΔA 标准=A 标准-A 标准空白。(标准管和标准空白管只需做 1-2 次, 每个测定管需设置一个对照管。)				

### 三、精氨酸酶活性计

1. 标准曲线的绘制：根据标准管的浓度 (x, μmol/mL) 和吸光度 ΔA 标准 (y, ΔA 标准), 建立标准曲线。根据标准曲线, 将 ΔA 测定代入方程得到 x (μmol/mL)。

2. 精氨酸酶活计算

(1) 按样本蛋白浓度计算

单位的定义：37°C 每 mg 组织蛋白每分钟催化产生 1μmol 尿素定义为一个酶活力单位。

$$\text{精氨酸酶活性 (U/mg prot)} = x \times V_{\text{样}} \div (Cpr \times V_{\text{样}}) \div T \times F = x \div 30 \div Cpr \times F$$

(2) 按样本质量计算

单位的定义：37°C 每 g 组织每分钟催化产生 1μmol 尿素定义为一个酶活力单位。

$$\text{精氨酸酶活性 (U/g 质量)} = x \times V_{\text{样}} \div (W \div V_{\text{样}} \times V_{\text{样}}) \div T \times F = x \div 30 \div W \times F$$

(3) 按细菌或细胞数目计算

单位的定义：37°C 每 10<sup>6</sup> 个细菌或细胞每分钟催化产生 1μmol 尿素定义为一个酶活力单位。

$$\text{精氨酸酶活性 (U/10}^6 \text{ cell)} = x \times V_{\text{样}} \div (N \div V_{\text{样}} \times V_{\text{样}}) \div T \times F = x \div 30 \div N \times F$$

V 样：反应体系中加入的样本体积, 0.048mL; V 样总：加入的提取液体积, 1mL; T：反应时间, 30min;

Cpr：蛋白质浓度, mg/mL; W：样本质量, g; N：细胞或细菌数目, 以 10<sup>6</sup> 计; F：样本稀释倍数。

#### 注意事项：

如果测定吸光值大于 1.5 或 Δ 测定大于 0.7, 可以对样本进行稀释或者缩短第一步 37°C 反应时间; 测定吸光值或 Δ 测定过小, 可以加大样本量或者延长第一步 37°C 反应时间。最终计算时同步修改计算公式。



扫一扫 加微信

**郑州乐业生物科技有限公司**

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址: 郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话: 400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱: zzlybio@126.com