

## 精氨酸酶活性检测试剂盒（可见分光光度法）

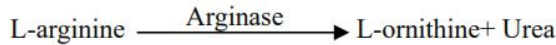
产品货号：BA2155

产品规格：50T/24S

### 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30mL×1瓶	2-8℃
提取液二	液体0.3mL×1支	-20℃
试剂一	粉剂×1瓶	2-8℃
试剂二	液体10mL×1瓶	2-8℃
试剂三	液体25mL×1瓶	2-8℃
试剂四	液体36mL×1瓶	2-8℃
试剂五	液体15mL×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9.6mL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、低温离心机、分析天平、水浴锅/恒温培养箱、可调式移液器、1mL 玻璃比色皿、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。12000g 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<sup>4</sup>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. 可见分光光度计预热 30min 以上，调节波长至 560nm，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 240μL 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	240	240	-	-
标准品	-	-	240	-
蒸馏水	-	-	-	240
试剂一	120	120	120	120
试剂三	360	360	360	360
试剂四	-	480	480	480
37°C 避光反应 30min				
试剂四	480	-	-	-
8000g 常温离心 5min, 另取一支 1.5mLEP, 吸取 1000μL 上清液于 EP 管中				
上清液	1000	1000	1000	1000
试剂五	200	200	200	200
沸水浴避光反应 40min, 冰水冷却, 8000g 常温离心 5min, 吸取上清于比色皿中, 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。

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

(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。

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

(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。

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

V 样：反应体系中加入的样本体积, 0.24mL; 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 1, 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