

土壤磷酸二酯酶活性(荧光法)试剂盒

规格：微量法 48样

检测原理：荧光法

编号：JLC_K14882

检测波长：355/450nm

注意

正式测定前务必取 3 - 5 个预期差异较大的样本做预测定。

测定意义

土壤磷酸二酯酶是在土壤磷酸单酯酶之后的第二大磷酸酶，在土壤有机磷的循环代谢中起到重要作用。

测定原理

MUF在 355 nm波长处激发，能在 450 nm处检测到荧光，它与某些物质结合后荧光特性消失，通过酶的水解作用MUF释放出来，通过检测荧光量来表征酶活性。

自备用品

酶标仪、台式离心机、恒温培养箱、可调式移液器、黑色96孔板和蒸馏水。

试剂组成和配制

试剂一：液体60mL×1瓶，4℃保存；

试剂二：粉剂×1瓶，-20℃避光保存(临用前加入0.24mL试剂三溶解后加入11.76mL蒸馏水混匀)；

试剂三：液体8mL×1瓶，常温避光保存；

标准品：粉剂×1瓶，-20℃避光保存。

样品处理

新鲜土样自然风干或37度烘箱风干，过30~50目筛。按照土壤质量（g）：试剂一（mL）为1：5~10 的比例（建议称取约0.1g土壤，加入1mL试剂一），冰浴匀浆混匀3min，制成匀浆待测液。

测定步骤

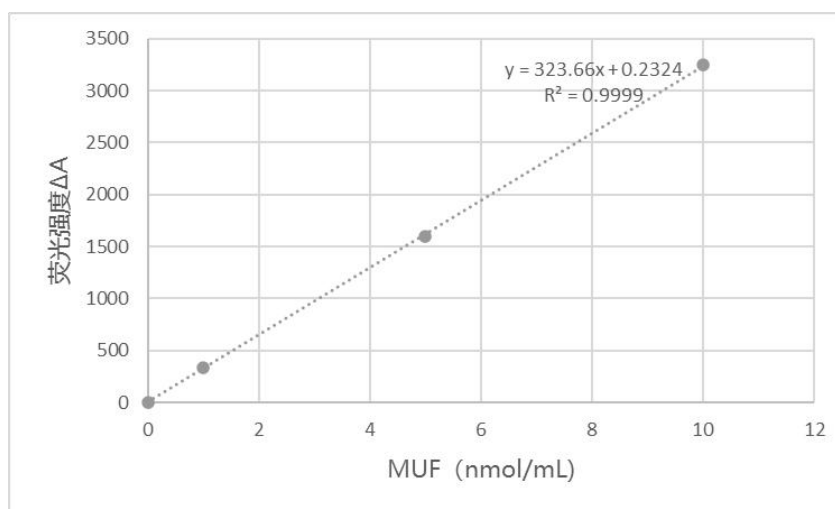
1、荧光酶标仪预热30min以上，设置激发光波长 355 nm，测定波长 450nm。

2. 加样表

试剂名称	测定管	空白管
震荡条件下取匀待测液 (μL)	200	-
蒸馏水 (μL)		200
试剂二 (μL)	200	200
混匀， 30℃避光振荡反应3h后， 3000g 4℃离心3min，取上清液200μL于黑色96孔板中，检测荧光值，激发波长355nm，发射波长450nm。荧光值分别为A测定A空白，计算 $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{空白管}}$ 。		

S-PDE活力计算

标准曲线： $y = 323.66x + 0.2324$ $R^2 = 0.9999$ x: MUF 标准品浓度(nmol/mL),
y: 荧光强度 ΔA



单位的定义：每小时每g土样中释放1 nmol 4-MUF定义为一个酶活力单位。

S-PDE酶活(nmol/h /g 土样) = $(\Delta A - 0.2324) \div 323.66 \times V \div V_1 \times V_{\text{提}} \div T \div W$

V: 反应总体积, 0.4 mL;

V₁: 加入反应体系中的匀浆待测液体积, 0.2mL

V_提: 加入提取液体积, 1mL;

W: 土壤样品质量, g;

T: 催化反应时间, 3 h。

预实验的意义

比色法检测试剂盒预实验非常重要

- 1、确定该试剂盒是否适合客户的样本检测，以免造成试剂盒和样本的浪费（比如低表达处理的样本）；
- 2、熟悉生化试剂盒的操作流程，尤其是初次使用生化试剂盒测定；
- 3、确定样本的处理方法及稀释倍数是否合适；
- 4、了解实验过程中可能出现的实验现象或问题，以便于及时作出调整；
- 5、通过3-5组预实验，判断试剂盒对于样本的适应稀释浓度范围，指导实验样本稀释比例。