

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：BNPP底物法

编号：JLC_K14880

检测波长：405nm

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

通过PDEs水解底物，产生的物质在405nm处有最大吸收峰。测定405nm处的OD值大小和标准曲线计算土壤中PDEs活力。

需自备的仪器和用品

酶标仪、台式离心机、可调式移液器、96孔板、研钵、水浴锅和蒸馏水。

试剂的组成

试剂一：粉剂×1瓶，-20℃避光保存。临用前加入15mL试剂二溶解；

试剂二：液体60mL×1瓶，4℃保存；

试剂三：液体30mL×1瓶，4℃避光保存。

样品处理

取新鲜土样或干土（风干或者37℃烘箱风干），过40目筛备用。

测定步骤:

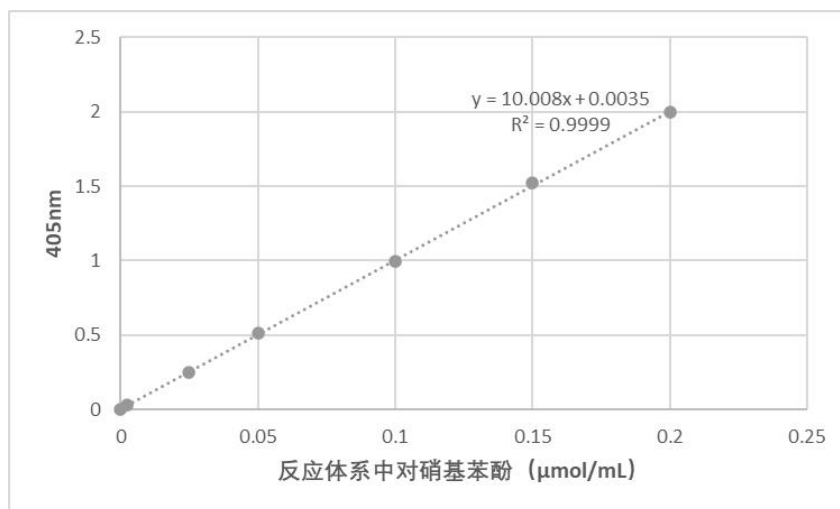
- 1、酶标仪预热30min以上，调节波长至405nm，蒸馏水调零。
- 2、所有试剂平衡至室温（25℃）。
- 3、在96孔板中依次加入：

试剂名称(μL)	测定管	对照管
土样	0.05g	0.05g
试剂一	250	-
试剂二	250	500
37℃振荡反应60min		
试剂三	250	250
混匀25℃ 12000rpm离心5min取200μL上清液至96孔板中于405nm处读取吸光值。ΔA = A测定管-A对照管。		

注意：如果ΔA光值大于2则需要对样本进行稀释,稀释倍数带入计算公式。如果ΔA小于0.05,则需要增加样本量。

结果计算:

标准曲线: $y = 10.008x + 0.0035$, $R^2 = 0.9999$; x为反应体系中标准品浓度 (μmol/mL), y为ΔA。



单位定义: 37℃条件下, 每克土壤每分钟生成1μmol产物定义为一个酶活力单位。

$$\text{PDE } (\mu\text{mol}/\text{min}/\text{g}) = (\Delta A - 0.0035) \div 10.008 \times V_{\text{反}} \div T \div W$$

V反: 反应体系总体积, 0.75mL;

W: 样本质量, g;

T: 酶促反应时间, 60min。

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。