

土壤酸性转化酶 (S-AI) 检测试剂盒 (微量法)

货号 : PMK1849

保存 : 4°C 避光保存 12 个月

规格 : 48T/24S 96T/48S

产品简介

S-AI 在 pH 为 4.5~5.0 (酸性) 条件下催化蔗糖不可逆地分解为果糖和葡萄糖, 是土壤微生物蔗糖代谢关键酶之一。本试剂盒提供了一种检测 S-AI 活性的便捷方法, 其原理是 S-AI 催化蔗糖降解产生还原糖, 进一步与 3,5-二硝基水杨酸反应, 生成棕红色氨基化合物, 在 540nm 有特征光吸收, 在一定范围内 540nm 光吸收增加速率与 S-AI 活性成正比。测定 540nm 吸光度的变化可计算 S-AI 活力。

产品内容

试剂盒组分	规格		储存条件
	48T	96T	
试剂一	25mL	50mL	4°C 保存
试剂二	粉剂×1 瓶	粉剂×1 瓶	4°C 保存
试剂三	7.5mL	15mL	常温避光保存
标准品 (10mg 葡萄糖)	粉剂×1 支	粉剂×1 支	4°C 保存

自备耗材

酶标仪或可见光分光光度计 (能测 540nm 处的吸光度)

水浴锅、台式离心机、30~50 目筛

96 孔板或微量玻璃比色皿、可调节式移液枪及枪头

去离子水

试剂准备

注意: 各组分 (小管试剂) 开盖前, 请先低速离心。

试剂一: 即用型; 使用前, 平衡到室温; 4°C 保存。

试剂二: 临用前 48T 加入 12.5mL 试剂一, 96T 加入 25mL 试剂一充分溶解待用; 用不完的试剂可 4°C 保存一周或分装-20 长期保存。

试剂三: 即用型; 常温避光保存, 若有黄色晶体析出, 需 90°C 加热溶解后再用。

标准品: 含 10mg 无水葡萄糖, 临用前加入 1mL 去离子水溶解得 10mg/mL 标准品储液。溶解后的标准品可 4°C 保存 1 个月或分装-20°C 长期保存。取 20μL 10mg/mL 标准品储液加 780μL 去离子水混匀得到 0.25mg/mL 标准品。

注意: 每次实验, 请使用新配制的标准品。

样本制备

新鲜土样自然风干或 37 度烘箱风干, 过 30~50 目筛。

实验步骤

1. 酶标仪或可见光分光光度计预热 30min 以上, 调节波长到 540nm, 可见光分光光度计去离子水调零。
2. 样本测定 (在 EP 管中依次加入下列试剂) :

试剂	测定管	对照管	标准管	空白管
风干土样 (g)	0.05	0.05	0	0

产品说明书

试剂一 (μ L)	0	400	0	0
试剂二 (μ L)	400	0	0	0
混匀, 37°C准确水浴 30min 后, 95°C水浴 10min (盖紧, 以防水分散失), 流水冷却后充分混匀 (以保证浓度不变), 10000g 25°C离心 10min, 取上清液				
上清	200	200	0	0
标准品	0	0	200	0
去离子水	0	0	0	200
试剂三	100	100	100	100

混匀, 95°C水浴 10min (盖紧, 以防止水分散失), 流水冷却后充分混匀, 540nm 处, 记录各管吸光值 A, 计算 $\Delta A_{\text{测}} = A_{\text{测}} - A_{\text{对}}$, $\Delta A_{\text{标}} = A_{\text{标}} - A_{\text{空}}$ 。标准曲线和空白管只要测定一次, 每个测定管需要设一个对照管。

注意: 实验之前建议选择 2-3 个预期差异大的样本做预实验。如果 $A_{\text{测}}$ 小于 0.001 可适当加大样本量。如果 $A_{\text{测}}$ 大于 2.0, 样本反应后的上清液可用去离子水进一步稀释, 计算结果乘以进一步稀释的稀释倍数, 或适当减少样本量, 注意调整公式中的样本质量 W。

结果计算

S-AI 活性计算:

$$S\text{-AI 活力 (U/g 土样)} = C_{\text{标}} \times (A_{\text{测}} \div \Delta A_{\text{标}}) \times V_{\text{反总}} \times \text{稀释倍数} \div W \div T = 192 \times (A_{\text{测}} \div \Delta A_{\text{标}})$$

$C_{\text{标}}$: 标准品浓度, 0.25mg/mL; $V_{\text{反总}}$: 反应体系总体积: 0.4mL; 稀释倍数: $400 \div 200 = 2$; T : 反应时间, 1/48d; W : 样本质量, 0.05g。

注意事项

- 实验过程中请穿戴实验服、口罩和乳胶手套。请按照生物实验室的国家相关规定进行实验, 尤其是在检测血样或其他体液时。
- 本试剂盒仅用于实验室科学研究, 如果本试剂盒用于临床诊断或任何其他用途, 我们将不对任何后果负责。
- 本试剂盒应在有效期内使用, 并请严格按照说明书进行存储。
- 不同批次号、不同厂家之间的组分不要混用; 否则, 可能导致结果异常。
- 勤换吸头, 避免各组分之间的交叉污染。

相关产品:

PMK1823 土壤纤维素酶 (S-CL) / 纤维素酶检测试剂盒 (微量法)

PMK1826 土壤蔗糖酶 (S-SC) 检测试剂盒 (微量法)

PMK1821 土壤 α -葡萄糖苷酶 (S- α -GC) 检测试剂盒 (微量法)

PMK1822 土壤 β -葡萄糖苷酶 (S- β -GC) / 纤维二糖水解酶检测试剂盒 (微量法)

更多产品详情了解, 请关注公众号:

