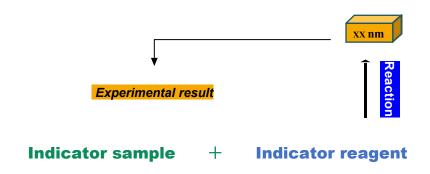


上海茁彩生物科技有限公司

Shanghai zcibio technology Co., Ltd.



生化检测原理示意图



土壤中性蛋白酶活性检测试剂盒说明书 微量法

注意:正式测定之前选择2-3个预期差异大的样本做预测定。

产品内容:

种类	试剂规格	储存条件	使用方法及注意事项
试剂一	液体20mL×1 瓶	4℃保存	_
试剂二	粉剂×1 瓶	4℃保存	临用前加入10mL试剂一,沸水浴搅拌溶解后待用
试剂三	粉剂×1 瓶	4°C保存	临用前加入10mL 蒸馏水充分溶解待用
试剂四	液体20mL×1 瓶	4℃保存	-
试剂五	液体5mL×1 瓶	4°C保存	-
标准品	液体1mL×1 支	4°C保存	0.25 μmol/mL 酪氨酸溶液

产品说明:

土壤蛋白酶参与土壤中存在的氨基酸、蛋白质以及其他含蛋白质氮的有机化合物的转化,其水解产物是高等植物的氮源之一。土壤中性蛋白酶在中性环境下催化蛋白质水解,与土壤有机质含量、氮素及其他土壤性质有关。中性条件下,土壤中性蛋白酶可将酪蛋白水解产生酪氨酸;在碱性条件下,酪氨酸还原磷钼酸化合物生成钨蓝,在680nm 有特征吸收峰。

实验中所需仪器及设备:

可见分光光度计/酶标仪、水浴锅、可调式移液枪、微量比色皿/96孔板、蒸馏水、50目筛(或更小)。

样品处理:

新鲜土样自然风干或 37℃烘箱风干, 过 30~50 目筛。

操作步驟:

1、分光光度计/酶标仪预热30min 以上,调节波长至680nm,蒸馏水调零。



2、样本测定:

试剂名称	测定管	对照管	标准管	空白管
风干土样 (g)	0. 05	0. 05	-	-
试剂一(μL)	50	50	_	_
试剂二(μL)	100		-	-
混匀后,37℃反应24h,期间振荡5-6 2	次,使土样与反应	液充分接触。	-	-
试剂三(μL)	100	100	-	-
试剂二(μL)	-	100	-	-
混匀, 10000rpm 室温离心	-	-		
上清液(μL)	44	44	-	_
标准液(μL)	-	-	44	-
蒸馏水(μL)	-	_	-	44
试剂四(μL)	130	130	130	130
试剂五(μL)	26	26	26	26

混匀, 40° C水浴 10min,10000rpm 室温离心 10min,取上清液于 680nm 下读取各管吸光值 A,分别记为 A 测定管、A 对照管、A 标准管、A 空白管,计算 Δ A 测定管-A 对照管, Δ A 标准=A 标准管-A 空白管。

注意:标准管、空白管只需测一次。每个测定管设一个对照管。

土壤中性蛋白酶活性计算:

单位定义:每天每g土样中产生1 µmol 酪氨酸为一个土壤中性蛋白酶活力单位。

土壤中性蛋白酶 (U/g) = C标准× Δ A测定÷ Δ A标准× V 反总÷ W÷ T = 0.0625× Δ A测定÷ Δ A标准÷ W。 C 标准管:标准管浓度,0.25 μ mol/mL; V 反总:酶促反应总体积,0.25 mL; T:反应时间,1d; W: 样本质量,g。

注意事项:

1、当吸光值大于1.5时,建议将上清液稀释后进行测定,计算时注意乘以稀释倍数。

Shanghai ZCIBIO Technology Co.,Ltd. TEL:021-65681082 Email:zcibio@163.com www.zcibio.com