

土壤磷酸二酯酶(PDEs)活性试剂盒

规格：微量法 48 样

检测原理：BNPP 底物法

编号：ml301006

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。

样本处理：

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℃）。

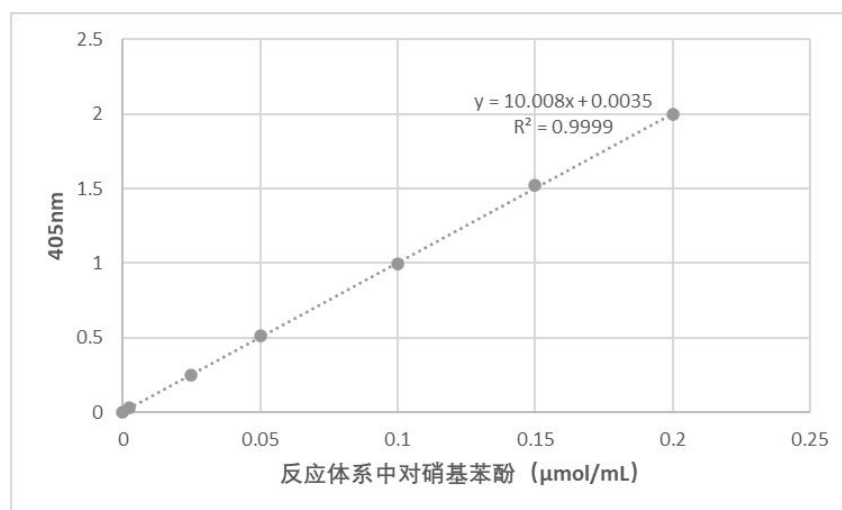
3、在 96 孔板中依次加入：

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最佳适应稀释浓度范围，指导实验样本稀释比例。