

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：ml301008

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。

样本处理：

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。

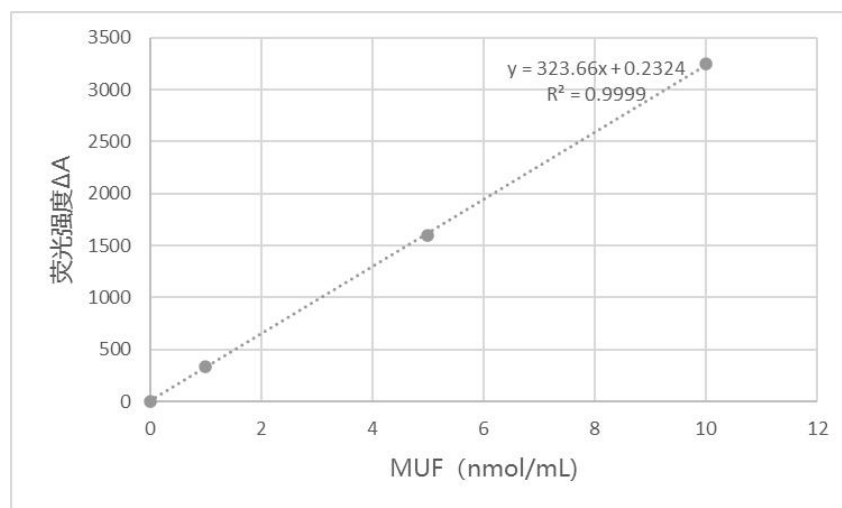
2. 加样表

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。

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

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，0.2 mL

V_提：加入提取液体积，1 mL；

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最佳适应稀释浓度范围，指导实验样本稀释比例。