

土壤碳酸酐酶 (S-CA) 活性检测试剂盒 (微量法)

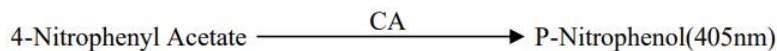
产品货号: BA2213

产品规格: 100T/48S

产品简介:

碳酸酐酶 (Carbonic Anhydrase, CA, EC4.2.1.1) 是一种以 Zn^{2+} 为活性中心的金属酶, 可用来高效催化 CO_2 的可逆水合反应: $CO_2 + H_2O \rightleftharpoons HCO_3^- + H^+$, 催化速率可达自然条件下的 10^7 倍, 是目前已知催化速率最快的酶之一。

碳酸酐酶可催化乙酸对硝基苯酯反应生成对硝基苯酚, 通过检测 405nm 处吸光值上升速率反映碳酸酐酶活性。



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。如果样本吸光值不在测量范围内建议稀释或者增加样本量进行检测。

产品组成:

试剂名称	规格	保存条件
试剂一	液体 40mL × 1 瓶	2-8°C
试剂二	粉剂 × 2 支	2-8°C
标准品	液体 1mL × 1 支	2-8°C

溶液的配制:

- 试剂二: 临用前取一支试剂二, 先加入 650 μ L 丙酮使粉剂充分溶解, 再加入 6.7mL 蒸馏水。未用完的试剂分装保存, -20°C 可以分装保存 1 周, 避免反复冻融。
- 标准品: 5 μ mol/mL 酚标准液。临用前取 50 μ L 的 5 μ mol/mL 酚标准液于中, 加入 750 μ L 蒸馏水充分混合, 配置成 0.3125 μ mol/mL 的酚标准液。

需自备的仪器和用品:

可见分光光度计/酶标仪、水浴锅/恒温培养箱、30-50 目筛、研钵、分析天平、台式离心机、可调式移液器、微量玻璃比色皿/96 孔板、甲苯、蒸馏水和冰。

操作步骤:

一、样本处理 (可适当调整待测样本量, 具体比例可以参考文献)

- 新鲜土样自然风干或 37°C 烘箱风干, 过 30~50 目筛。

二、测定步骤

- 可见分光光度计/酶标仪预热 30min 以上, 调节波长至 405nm。可见分光光度计用蒸馏水调零。
- 试剂一使用前 37°C 预热 15min。
- 标准管测定

① 标准管测定: 在 1.5mL EP 管内中加入 80 μ L 标准液, 320 μ L 试剂一, 充分混匀后, 吸取 0.2mL 于微量玻璃比色皿/96 孔板中测定 405nm 处吸光值, 记作 $A_{\text{标准}}$ 。

② 标准空白管测定: 在 1.5mL EP 管内中加入 80 μ L 蒸馏水, 320 μ L 试剂一, 充分混匀后, 吸取 0.2mL 于微量玻璃比色皿/96 孔板中测定 405nm 处吸光值, 记作 $A_{\text{标准空白}}$ 。

③ 计算 $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准}} - A_{\text{标准空白}}$ 。(标准管和标准空白管只需做 1-2 次。)

- 操作表: (在 1.5mL EP 管内加入):

试剂名称 (μ L)	测定管	对照管
-----------------	-----	-----



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址: 郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话: 400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱: zzlybio@126.com

样本	0.1g	0.1g
甲苯	20	20
充分振荡使土壤呈潮湿状态，常温静置 15min		
试剂一	300	300
		煮沸 10min，冰水冷却
试剂二	80	80
37℃反应 5min 后立即放入冰水浴中，之后 15000g，4℃离心 10min。吸取 0.2mL 于微量玻璃比色皿/96 孔板中测定 405nm 处吸光值，记作 A _{测定} ，A _{对照} 。计算 $\Delta A = A_{测定} - A_{对照}$ 。（每个测定管对应一个对照管。）		

三、土壤 CA 活性计算

1. 按样本质量计算：

单位的定义：37℃，每 g 组织每分钟催化产生 1 μ mol 对硝基苯酚定义为一个酶活力单位。

$$S\text{-CA 活性 (U/g 质量)} = C_{标} \times \Delta A \div \Delta A_{标准} \times V_{标准} \div W \div T \times F = 0.005 \times \Delta A \div \Delta A_{标准} \div W \times F$$

C_标：标准品浓度，0.3125 μ mol/mL；V_{标准}：反应体系中加入的标准液体积，0.08mL；T：反应时间，5min；W：样本质量，g；F：样本稀释倍数。

注意事项：

1. 如果 A_{测定} 大于 1.5 或者 ΔA 大于 0.8，可以减少样本量或者缩短 37℃ 酶促反应时间； ΔA 小于 0.02，可以加大样本量或者延长 37℃ 酶促反应时间。注意计算时同步修改计算公式。
2. 如果离心后待测的上清依然浑浊，可尝试加大离心转速或延长时间，例如 20000g，4℃，离心 10min。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q：807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com