

土壤天冬酰胺酶（S-ASNase）试剂盒（可见分光光度法）

产品货号：BA2809

产品规格：48样

产品简介：

天冬酰胺酶(ASNase, EC 3.5.1.1)是酰胺酶的一种，催化天冬酰胺水解成天冬氨酸和氨，在氮素代谢中具有重要调控作用。

土壤中的天冬酰胺酶(S-ASNase)催化天冬酰胺水解成天冬氨酸和氨，利用氨在强碱的环境下与次氯酸盐和苯酚作用，生成水溶性染料靛酚蓝，溶液颜色稳定。其在630nm处有特征吸收峰，通过检测氨增加的速率，即可计算该酶活性大小。

产品内容：

产品名称	规格	保存条件	备注
试剂一	液体20mL×1瓶	2-8°C	
试剂二	粉剂mg×2瓶	2-8°C	临用前甩几下使粉体落入底部，每瓶再加6mL蒸馏水溶解备用。
试剂三	液体30mL×1瓶	2-8°C	
试剂四	液体24mL×1瓶	2-8°C	
试剂五	液体12mL×1瓶	2-8°C	
试剂六	A: 液体7mL×4瓶 B: 液体μL×1支	2-8°C	临用前取60μL的B液进一瓶A液中，混匀后作为试剂六使用。混匀后的试剂六一周内用完。
标准管	液体2mL×1支	2-8°C	若重新做标曲，则用到该标曲。

所需的仪器和用品：

可见分光光度计、1mL玻璃比色皿（光径1cm）、台式离心机、可调式移液枪、水浴锅或恒温培养箱、甲苯和蒸馏水。

土壤天冬酰胺酶（S-ASNase）活性测定：

建议正式实验前选取2个样本做预测定，了解本批样品情况，熟悉实验流程，避免实验样本和试剂浪费！

1. 样本制备：

取新鲜土样风干或者37°C烘箱风干，先粗研磨，过40目筛网，备用。

【注】：土壤风干，减少土壤中水分对于实验的干扰；土壤过筛，保证取样的均匀细腻。

2. 上机检测：

(1) 培养：取EP管依次加入：

试剂名称 (μL)	测定管	对照管
土样 (g)	0.1	0.1
甲苯	20	20
振荡混匀，室温放置15min		
试剂一	200	200
试剂二	100	
混匀，放入37°C水浴锅或恒温培养箱中孵育2h		



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

试剂三	300	300
试剂二		100
充分混匀, 沸水浴(95-100°C) 10min, 室温12000rpm离心10min, 上清液待测。		

- (2) 可见分光光度计预热30min以上, 调节波长至630nm, 蒸馏水调零。
 (3) 显色反应: 在EP管中依次加入:

试剂名称 (μL)	测定管	对照管
上清液	60	60
蒸馏水	180	180
试剂四	240	240
试剂五	120	120
试剂六	240	240

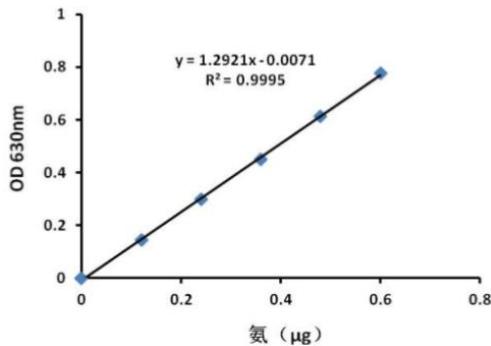
充分混匀, 37°C放置20min后, 全部液体转移至1mL玻璃比色皿(光径1cm)中, 于630nm处读取吸光值A, $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}}$ (每个样本做一个自身对照)。

【注】

- 试剂四和五和六需分开加, 不能事先混匀。
- 若 ΔA 的值较小, 可以增加37°C孵育时间T(如增至4小时或更长), 或在显色反应阶段增加上清液的量V1(如增至120μL, 则蒸馏水体积相应减少); 则改变后的反应时间T和上清液体积V1需代入计算公式重新计算。
- 若A测定的值大于1.8, 可以减少37°C孵育时间T(如减至1小时或更短), 或在显色反应阶段减少上清液的量V1(如减至30μL, 则蒸馏水体积相应增加); 则改变后的反应时间T和上清液体积V1需代入计算公式重新计算。

结果计算:

- 标准曲线方程为: $y = 1.2921x - 0.0071$, x是标准品质量(μg), y为吸光值 ΔA 。



- 单位定义: 每克土样每小时催化天冬酰胺生成1μg氨定义为一个酶活力单位。
 $S\text{-ASNase (ug/h/g 土样)} = (\Delta A + 0.0071) \div 1.2921 \times (V \div V1) \div W \div T = 4 \times (\Delta A + 0.0071) \div W$
 V---反应体系总体积, 0.62mL; V1-显色反应阶段上清液体积, 0.06mL; T---反应时间, 2h; w---土样质量。

附: 标准曲线制作过程:

- 标准品母液(10μg/mL的氨)。
- 把母液稀释成以下浓度梯度的标准品: 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0 μg/mL。也可根据实际样本来调整标准品浓度。
- 按照显色反应阶段的测定管加样体系操作, 根据结果即可制作标准曲线。



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

扫一扫 加微信