

土壤 β -1,4-葡聚糖酶/纤维二糖苷酶 (S-C1) 活性检测试剂盒 (微量法)

产品货号: BA1357

产品规格: 100管/48样

产品简介:

β -1,4-葡聚糖酶/纤维二糖苷酶(C1, EC3.2.1.91)存在于细菌、真菌和动物体内,是纤维素酶系的组份之一,C1酶作用于纤维素线状分子的末端,水解 β -葡萄糖苷键,每次切下1个纤维二糖分子。

S-C1能够催化对硝基苯纤维二糖苷(PNPC)生成对-硝基苯酚,后者在400nm有特征光吸收。

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2mL×1瓶(自备)	4°C
试剂二	粉剂×2瓶	4°C
试剂三	液体40mL×1瓶	4°C
试剂四	液体30mL×1瓶	4°C
标准品	液体1mL×1支	4°C

溶液的配制:

1. 试剂一: 甲苯自备。
2. 试剂二: 临用前每瓶加入7.5mL试剂三,充分溶解备用,用不完的试剂仍4°C保存。
3. 标准品: 5mmol/L的对硝基苯酚溶液。临用前用试剂三将标准品稀释50倍得100 μ mol/L的标准溶液。

需自备的仪器和用品:

可见分光光度计/酶标仪、台式离心机、水浴锅、可调式移液器、微量玻璃比色皿/96孔板、研钵、冰、30-50目筛、甲苯(不允许快递)和蒸馏水。

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

1. 分光光度计/酶标仪预热30min以上,波长调至400nm,蒸馏水调零。
2. 加样表:

试剂名称	测定管	对照管	标准管	空白管
风干土样(g)	0.03	0.03	-	-
试剂一(μ L)	15	15	-	-
振荡混匀,使土样润湿,室温放置15min			-	-



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司
Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址:上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话:400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱: saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com

试剂二 (μL)	120	-	-	-
试剂三 (μL)	150	150	-	-
混匀, 37°C水浴反应 1h 后, 立即沸水浴 5min (盖紧, 防止水分散失), 流水/冰浴冷却。			-	-
试剂二 (μL)	-	120	-	-
10000rpm 25°C离心 10min, 取上清液			-	-
上清液 (μL)	100	100	-	-
标准品 (μL)	-	-	100	-
蒸馏水 (μL)	-	-		100
试剂四 (μL)	200	200	200	200

充分混匀, 室温静置 2min 后, 吸取 200μL 于微量比色皿/96 孔板中测定 400nm 处的吸光值 A, 分别记为 A 测定管、A 对照管、A 标准管、A 空白管。计算 $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}}$, $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准管}} - A_{\text{空白管}}$ 。每个测定管设一个对照管。

三、S-C1 活力计算

单位的定义: 每天每 g 土样中产生 1μmol 对-硝基苯酚定义为一个酶活力单位。

S-C1 活力 (U/g 土样) = $\Delta A \div (\Delta A_{\text{标准}} \div C_{\text{标准}}) \times V_{\text{反应}} \div W \div T = 0.684 \times \Delta A \div \Delta A_{\text{标准}} \div W$

T: 反应时间, 1h=1/24d; V 反应: 反应体系总体积: 2.85×10^{-4} L; C 标准: 标准溶液浓度, 100μmol/L; W: 样本质量, g。

注意事项:

当吸光值大于 1.5 时, 建议将上清液用试剂三稀释后测定或者减少土样质量测定。

实验实例:

- 取两管 0.03g 土样, 即为测定管和对照管, 按照测定步骤操作, 记为 A 测定管、A 对照管。用 96 孔板测得计算 $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}} = 0.444 - 0.244 = 0.2$, $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准管}} - A_{\text{空白管}} = 0.413 - 0.048 = 0.365$, 计算酶活得: S-C1 活力 (U/g 土样) = $0.684 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div W = 0.684 \times 0.2 \div 0.365 \div 0.03 = 12.493$ U/g 土样。
- 取两管 0.03g 林土样, 即为测定管和对照管, 按照测定步骤操作, 记为 A 测定管、A 对照管。用 96 孔板测得计算 $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}} = 0.33 - 0.195 = 0.135$, $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准管}} - A_{\text{空白管}} = 0.413 - 0.048 = 0.365$, 计算酶活得: S-C1 活力 (U/g 土样) = $0.684 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div W = 0.684 \times 0.135 \div 0.365 \div 0.03 = 8.4329$ U/g 土样。



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司
 Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址: 上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话: 400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱: saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com