

土壤碳酸酐酶 (S-CA) 活性检测试剂盒 (可见分光光度法)

产品货号: BA2212

产品规格: 50T/24S

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75mL×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1mL丙酮使粉剂充分溶解, 再加入10mL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酚标准液于试剂瓶中, 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、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、1mL玻璃比色皿、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

- 可见分光光度计预热30min以上, 调节波长至405nm。蒸馏水调零。

- 试剂一使用前37°C预热15min。

3. 标准管测定

① 标准管测定: 在2mLEP管内中加入320 μ L标准液, 1180 μ L试剂一, 充分混匀后, 于1mL玻璃比色皿中测定405nm处吸光值, 记作 $A_{\text{标准}}$ 。

② 标准空白管测定: 在1.5mLEP管内中加入320 μ L蒸馏水, 1180 μ L试剂一, 充分混匀后, 于1mL玻璃比色皿中测定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2mLEP管内加入):



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

试剂名称 (μL)	测定管	对照管
样本	0.2g	0.2g
甲苯	50	50
充分振荡使土壤呈潮湿状态，常温静置 15min		
试剂一	1130	1130
-		煮沸 10min，冰水冷却
试剂二	320	320
37°C 反应 5min 后立即放入冰水浴中，之后 15000g，4°C 离心 10min。吸取 1mL 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°C，每 g 组织每分钟催化产生 1μmol 对硝基苯酚定义为一个酶活力单位。

$$S\text{-CA 活性 (U/g 质量)} = C_{标} \times \Delta A \div \Delta A_{标准} \times V_{标准} \div W \div T \times F = 0.02 \times \Delta A \div \Delta A_{标准} \div W \times F$$

C_标：标准品浓度，0.3125μmol/mL；V_{标准}：反应体系中加入的标准液体积，0.32mL；T：反应时间，5min；W：样本质量，g；F：样本稀释倍数。

注意事项：

- 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°C 酶促反应时间；ΔA 小于 0.02，可以加大样本量或者延长 37°C 酶促反应时间。注意计算时同步修改计算公式。
- 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°C，离心 10min。



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