

土壤天冬酰胺酶（S-ASNase）试剂盒（微板法）

产品货号：BA2810

产品规格：96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40mL×1瓶	2-8℃	
试剂二	粉剂mg×2瓶	2-8℃	临用前甩几下使粉体落入底部,每瓶再加11mL蒸馏水溶解备用。
试剂三	液体60mL×1瓶	2-8℃	
试剂四	液体12mL×1瓶	2-8℃	
试剂五	液体6mL×1瓶	2-8℃	
试剂六	A: 液体3.5mL×4瓶 B: 液体μL×1支	2-8℃	临用前取30μL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℃	若重新做标曲,则用到该标曲。

所需的仪器和用品：

酶标仪、96孔板、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℃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℃水浴锅或恒温培养箱中孵育2h		



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

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

(2) 酶标仪预热30min以上，调节波长至630nm。

(3) 显色反应：在96孔板中依次加入：

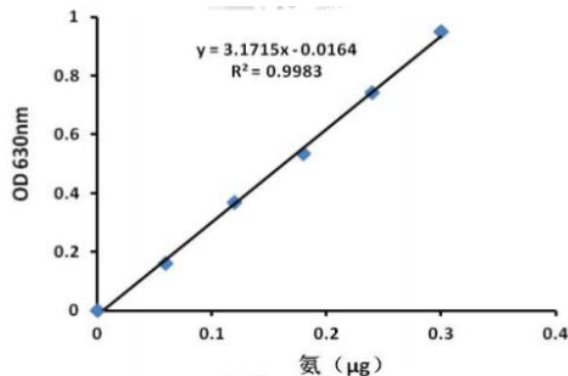
试剂名称（μL）	测定管	对照管
上清液	15	15
蒸馏水	45	45
试剂四	60	60
试剂五	30	30
试剂六	60	60
充分混匀，37℃放置20min后，于630nm处读取吸光值A， $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}}$ （每个样本做一个自身对照）。		

【注】

1. 试剂四和五和六需分开加，不能事先混匀。
2. 若 ΔA 的值较小，可以增加37℃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30μL，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。
3. 若A测定的值大于1.5，可以减少37℃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5μL，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：

1. 标准曲线方程为： $y = 3.1715x - 0.0164$ ，x是标准品质量(μg)，y为吸光值 ΔA 。



2. 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。

$$S\text{-ASNase (ug/h/g 土样)} = (\Delta A + 0.0164) \div 3.1715 \times (V \div V_1) \div W \div T = 6.52 \times (\Delta A + 0.0164) \div W$$

V---反应体系总体积，0.62mL；V1-显色反应阶段上清液体积，0.015mL；T---反应时间，2h；w---土样质量。

附：标准曲线制作过程：

1. 标准品母液(20μg/mL的氨)。
2. 把母液稀释成以下浓度梯度的标准品:0,4,8,12,16,20μg/mL。也可根据实际样本来调整标准品浓度。
3. 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。



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