

## 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℃ |                                            |
| 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6mL蒸馏水溶解备用。              |
| 试剂三  | 液体30mL×1瓶                 | 2-8℃ |                                            |
| 试剂四  | 液体24mL×1瓶                 | 2-8℃ |                                            |
| 试剂五  | 液体12mL×1瓶                 | 2-8℃ |                                            |
| 试剂六  | A: 液体7mL×4瓶<br>B: 液体μL×1支 | 2-8℃ | 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℃ | 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℃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 |     |



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

|                                                 |     |     |
|-------------------------------------------------|-----|-----|
| 混匀，放入37℃水浴锅或恒温培养箱中孵育2h                          |     |     |
| 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) 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：

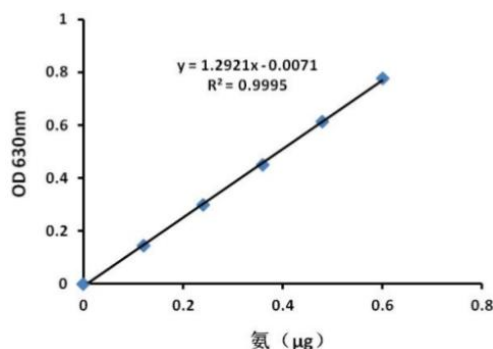
| 试剂名称（μL）                                                                                                            | 测定管 | 对照管 |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|-----|
| 上清液                                                                                                                 | 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℃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】

1. 试剂四和五和六需分开加，不能事先混匀。
2. 若 $\Delta A$ 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。
3. 若A测定的值大于1.8，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：

1. 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 $\Delta A$ 。



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。

$$S\text{-ASNase (ug/h/g 土样)} = (\Delta A + 0.0071) \div 1.2921 \times (V \div V1) \div W \div T = 4 \times (\Delta A + 0.0071) \div W$$

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：

1. 标准品母液(10μg/mL的氨)。
2. 把母液稀释成以下浓度梯度的标准品:0,2,4,6,8,10μg/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