

Soil Nucleases Activity Assay Kit

土壤核酸酶活性测定试剂盒说明书

货号: BN72525 | 方法: 可见分光法 | 规格: 24 样

一、产品简介:

核酸是土壤有机磷的组分之一,在核酸酶的作用下,核酸经过多步分解最终释放出无机磷,水解产物是植物的磷源之一。土壤核酸酶的活性通过度量土壤核苷酸酶的活性测得。

土壤核酸酶即土壤核苷酸酶通过水解底物核糖核苷酸生成无机磷和其他物质,无机磷在酸性环境中与钼酸铵反应生成蓝色复合物,通过在 700nm 处检测该有色物质的生成速率即可计算土壤核酸酶活性大小。

二、试剂盒组成和配制:

试剂名称	规格	保存要求	备注
试剂一	液体 35mL×1 瓶	4℃保存	
试剂二	粉剂 mg×1 瓶	4℃保存	临用前甩几下使试剂落入底部,再加入 30mL 试剂一,充分溶解备用。
试剂三	液体 25mL×1 瓶	4℃保存	
试剂四	液体 20mL×1 瓶	4℃保存	
试剂五	粉剂 mg×1 瓶	4℃保存	临用前甩几下使试剂落入底部,再加入 5mL 蒸馏水,充分溶解备用。
试剂六	粉剂 mg×3 支	4℃保存	临用前甩几下使试剂落入底部,每支再加入 1.5mL 蒸馏水,现配现用。
标准品	粉剂 mg×1 支	4℃保存	若重新做标曲,则用到该试剂。

【注】: 全程操作需无磷环境;试剂配置最好用新的枪头和玻璃移液器等,也可以用一次性塑料器皿,避免磷污染。

三、所需的仪器和用品:

可见分光光度计、1mL 玻璃比色皿(光径 1cm)、天平、低温离心机、恒温水浴锅,可调式移液器。

四、土壤核酸酶活性测定:

建议正式实验前选取 2 个样本做预测定,了解本批样本情况,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 30℃烘箱风干,先粗研磨,过 40 目筛,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 可见分光光度计预热 30min 以上,调节波长至 700nm,蒸馏水调零。

② 在 EP 管中依次加入:

试剂名称 (μL)	测定管	对照管
土壤样本 (g)	0.1	0.1
试剂二	500	
混匀, 37℃振荡培养 2h (间隔 30min 振荡混匀一次)		
试剂三	500	500

试剂二		500
立即混匀，于 12000rpm，室温或 4℃离心 10min， 上清液需立即测定，不可久置。		

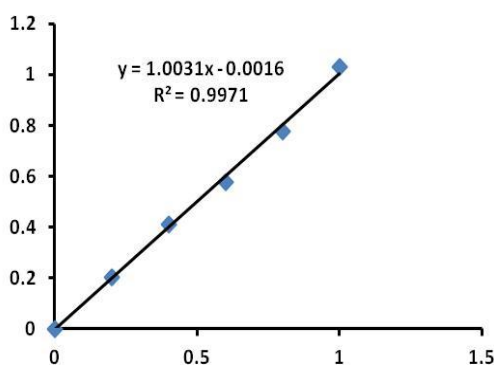
③ 显色反应，在 EP 管中依次加入：

上清液	160	160
试剂四	400	400
试剂五	80	80
试剂六	80	80
混匀，室温静置 10min，全部液体转移至 1mL 玻璃 比色皿(光径 1cm)中，于 700nm 处读取吸光值 A， $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ (每个样本需做一个自身对照)。		

注意：本操作流程适用于绝大多数常规样本检测，实验条件可根据实际样本状态适度微调；
针对特殊类型样本，我司技术支持可提供专属优化建议。

五、结果计算：

1、标准曲线方程： $y = 1.0031x - 0.0016$ ，x 是标准品摩尔浓度 ($\mu\text{mol/mL}$)，y 是 ΔA 。



标准曲线示意图

说明：标准曲线由标准品测定获得，具体制作方法详见随货说明书或咨询技术支持。

2、酶活定义：37℃条件下，每克土样每小时释放出 $1\mu\text{mol}$ 的无机磷为一个酶活力单位。

$$\begin{aligned} \text{土壤核酸酶活性}(\mu\text{mol/h/g 土样}) &= (\Delta A + 0.0016) \div 1.0031 \times V1 \div W \div T \\ &= 0.5 \times (\Delta A + 0.0016) \div W \end{aligned}$$

V1---孵育阶段的反应总体积，1mL；

T---反应时间，2h；

W---样本质量，g；