Soil-Asparaginase Activity Assay Kit

土壤天冬酰胺酶(S-ASNase) 测定说明书

货号：BN72558| 方法：可见分光法 | 规格：48 样

一、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。

二、试剂盒的组成和配制：

试剂名称	规格	保存要求	备注
试剂一	液体 20mL×1 瓶	4℃保存	
试剂二	粉剂 mg×2 瓶	4℃保存	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	4℃保存	
试剂四	液体 24mL×1 瓶	4℃保存	
试剂五	液体 12mL×1 瓶	4℃保存	
试剂六	A：液体 7mL×4 瓶 B：液体μL×1 支	4℃保存	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	4℃保存	若重新做标曲，则用到该标曲。

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）、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。

四、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、样本的制备：

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		
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。

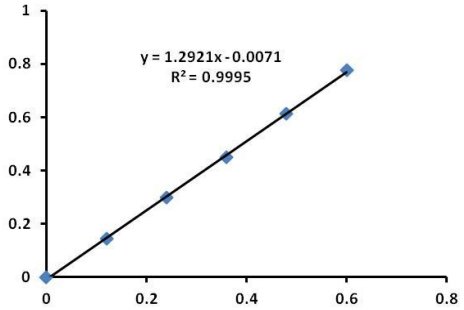
③ 显色反应：在 EP 管中依次加入：

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， ΔA=A 测定管-A 对照管（每个样本做一个自身对照）。		

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、标准曲线方程为 y = 1.2921x - 0.0071；x 为标准品质量（μg），y 为吸光值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、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-ASNase(μg/h/g 土样)=(ΔA+0.0071) ÷1.2921×(V÷V1)÷W÷T

=4×(ΔA+0.0071) ÷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；