

### 土壤漆酶(S-Lac)检测试剂盒说明书

产品货号	产品名称	包装规格	测定方法
SMHC4-M48	土壤漆酶(S-Lac)检测试剂盒	48T	微量法

#### 一、测定意义

土壤漆酶是一种含铜的多酚氧化酶，属于铜蓝氧化酶家族，广泛分布于真菌和高等植物中，具有较强的氧化还原能力，在纸浆生物漂白，环境污染物降解和木质纤维素降解以及生物检测方面有着非常广泛的应用。

#### 二、测定原理

漆酶分解底物 ABTS 产生 ABTS 自由基，在 420nm 处的吸光系数远大于底物 ABTS，测定 ABTS 自由基的增加速率，可计算得漆酶活性。

#### 三、试剂组成

试剂名称	试剂装量	保存条件
试剂一	液体 30 mL×1 瓶	2-8℃ 保存
试剂二	粉剂 ×2 瓶	2-8℃ 保存
<b>试剂二配制：</b> 临用前取 1 瓶粉剂加入试剂一 7.5mL 充分溶解，现用现配。		
试剂三	液体 3 mL×1 瓶	2-8℃ 保存

#### 四、操作步骤

##### 样本处理

新鲜土样自然风干或 37℃ 烘箱风干，过 30~50 目筛。

##### 测定步骤

1、分光光度计/酶标仪预热 30min 以上，调节波长至 420nm。

2、操作表（在 2mL EP 管中依次加入下列试剂）：

试剂名称	对照管	测定管
样本 (g)	0.03	0.03
试剂一 (mL)	0.135	0.135
试剂二 (mL)	0.15	-
置于 37℃ 水浴锅或 37℃ 恒温培养箱准确反应 10min		
试剂三 (mL)	0.015	0.015
试剂二 (mL)	-	0.15
<p>4℃，12000g 离心 15min，取上清 200μL 于 420nm 测定其吸光值，分别记为 <math>A_{\text{测定管}}</math>、<math>A_{\text{对照管}}</math>，计算 <math>\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}}</math>。</p> <p style="text-align: center;"><b>注：每个测定管需设一个对照管</b></p>		

## 五、土壤漆酶活力的计算

### A、按微量比色皿计算：

酶活性定义：每克土壤每分钟生成 1nmol ABTS 自由基所需的酶量为一个酶活力单位。

$$\text{SL 活性 (U/g 土样)} = \Delta A_{\text{测定}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9 \times V_{\text{反应}} \div W \div T = 0.833 \times \Delta A_{\text{测定}} \div W$$

$\epsilon$ ：ABTS 自由基摩尔消光系数：36000L/mol/cm；d：比色皿光径，1cm；

$V_{\text{反应}}$ ：反应总体积， $3 \times 10^{-4}$ L；W：样本质量，g；T：反应时间，10min；

$10^9$ ：单位换算系数，1mol= $10^9$ nmol。

### B、按 96 孔板计算：

酶活性定义：每克土壤每分钟生成 1nmol ABTS 自由基所需的酶量为一个酶活力单位。

$$\text{SL 活性 (U/g 土样)} = \Delta A_{\text{测定}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9 \times V_{\text{反应}} \div W \div T = 1.39 \times \Delta A_{\text{测定}} \div W$$

$\epsilon$ ：ABTS 自由基摩尔消光系数：36000L/mol/cm；d：比色皿光径，0.6cm；

$V_{\text{反应}}$ ：反应总体积， $3 \times 10^{-4}$ L；W：样本质量，g；T：反应时间，10min；

$10^9$ ：单位换算系数，1mol= $10^9$ nmol。

## 六、注意事项

- 1、测定之前进行预实验，若吸光值较高 ( $A > 1.5$ )，请减少土样质量再进行测定。若数值偏小可以延长反应时间 或增加土样质量进行测定。计算时注意相对应修改计算公式；
- 2、离心后若上清仍然浑浊，可再次离心去除；
- 3、试剂三若有白色沉淀析出，37℃溶解即可。

## 七、公司介绍

陌凡生物科技有限公司是一家专业从事转基因检测、食品安全以及动植物疫病检测为核心业务的生物科技公司。能够为客户提供动植物疫病检测试剂、小分子抗原抗体、植物激素、植物抗体、重组蛋白等优质产品。自主研发了涵盖分子生物学、细胞生物学、免疫学、生物医学等领域的各种试剂盒。产品覆盖面广，品质可靠。