土壤碳酸酐酶（S-CA）活性检测试剂盒

Soil Carbonic Anhydrase (S-CA) Activity Assay Kit

北京盒子生工科技有限公司
Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.

土壤碳酸酐酶（S-CA）活性检测试剂盒

Soil Carbonic Anhydrase (S-CA) Activity Assay Kit

一、产品描述

土壤碳酸酐酶能够催化二氧化碳和水反应生成碳酸，通过碳循环过程参与土壤有机质的分解和转化，进而影响土壤肥力和养分的供应，对土壤生态系统的稳定性和功能具有重要影响。

土壤碳酸酐酶能够催化乙酸对硝基苯酯反应生成对硝基苯酚，产物在 405 nm 处具有特征吸收峰，通过吸光值变化即可表征土壤碳酸酐酶的活性。

二、产品内容

名称	试剂规格	储存条件	使用方法及注意事项
试剂一	液体 50 mL×1 瓶	4℃保存	-
试剂二	粉剂×2 瓶	-20℃避光保存	**使用前每瓶加入 1 mL 丙酮充分溶解再加入 10 mL 蒸馏水充分混匀** （分装后-20℃可保存 1 周，避免反复冻融）
标准液	液体 1 mL×1 支	4℃避光保存	**10 μmol/mL 对硝基苯酚标准液**
标准稀释液的制备（现用现配）：使用前将 10 μmol/mL 对硝基苯酚标准液使用蒸馏水稀释至 0.6、0.5、0.4、0.2、0.1、0.05 μmol/mL 即为标准稀释液。			

需自备试剂：丙酮（C_3H_6O，MW=58.08，CAS:67-64-1）；甲苯（C_7H_8，MW=92.14，CAS:108-88-3）

序号	A	1	2	3	4	5	6
稀释前浓度（μmol/mL）	10	1.0	1.0	1.0	0.4	0.2	0.1
标准液体积（μL）	100	300	250	200	500	500	500
蒸馏水体积（μL）	900	200	250	300	500	500	500
稀释后浓度（μmol/mL）	1.0	0.6	0.5	0.4	0.2	0.1	0.05

三、产品使用说明

测定过程中所需要的仪器和试剂：酶标仪、96 孔板、可调式移液器/多道移液器、台式离心机、恒温水浴/培养箱、烘箱、30-50 目筛、甲苯和丙酮。

1.土壤样本的预处理

新鲜土样自然风干或 37℃烘箱风干，过 30-50 目筛。

Not for further distribution without written consent. Copyright © 2020 Boxbio, All Rights Reserved.

2.测定步骤

①酶标仪预热 30 min 以上，调节波长至 405 nm。

②试验前将**试剂一**置于 37℃预热 15 min 以上。

③**标准稀释液的测定：**在 96 孔板中依次加入下列试剂

试剂	标准组（μL）	空白组（μL）
标准稀释液	40	-
蒸馏水	-	40
试剂一	160	160

吸光值测定：充分混匀后测定 405 nm 处吸光值，记为 A 标准和 A 空白，计算 ΔA 标准=A 标准-A 空白；注：各浓度标准组和空白组只需测定 1-2 次。

标准曲线的建立：以 0.6、0.5、0.4、0.2、0.1、0.05 μmol/mL 标准稀释液浓度为横坐标（x），以其对应的ΔA 标准为纵坐标（y），绘制标准曲线，得到标准方程 y=kx+b。

④**土壤碳酸酐酶活性测定：**在离心管中依次加入下列试剂

试剂	测定组（μL）	对照组（μL）
风干土样（mg）	50	50
甲苯	20	20
充分振荡混匀，室温静置 15 min		
试剂一	380	380
充分混匀，对照管沸水浴处理 10 min 冷却至室温，**测定管不进行此步骤**		
试剂二	100	100
充分混匀，37℃准确反应 5 min 立即置于冰水浴中恢复至室温 4℃ 15000 g 离心 10 min，**取上清液**		

注：沸水浴处理过程注意密封以防止水分散失，推荐使用带螺纹盖离心管或冻存管。

吸光值测定：吸取 200 μL 上清液至 96 孔板中，测定 405 nm 处吸光值，记为 A 测定和 A 对照，计算 ΔA 测定=A 测定-A 对照。将 ΔA 测定带入标准曲线方程 y=kx+b，计算样品浓度 x（μmol/mL）。注：每个样本均需设一个对照组；离心后上清液应完全清澈，若浑浊可再次离心。

Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.
Not for further distribution without written consent. Copyright © 2020 Boxbio, All Rights Reserved.

3.土壤碳酸酐酶（S-CA）活性计算

单位定义：37℃条件下，每 g 土壤每分钟催化生成 1 μmol 对硝基苯酚定义为一个酶活力单位。

$$S\text{-}CA（U/g）= \frac{x \times V_{标}}{W \times T} = \frac{0.02 \times x}{W}$$

注释：V 标：加入标准稀释液的体积，0.1 mL；W：土壤质量，g；T：酶促反应时间，5 min。

四、注意事项

①若 A 测定或 ΔA 测定超出标准吸光值线性范围：高于最高值建议将上清液使用蒸馏水稀释后再进行测定；低于最低值建议增加样本量或延长酶促反应时间（37℃反应时间可延长至 10-30 min）后再进行测定，计算时相应修改；

②试剂二配制后有效期较短，为便于试验安排，附赠一瓶试剂二作为备用，每瓶均可完成至少 50 个样本的检测用量；

③为保证结果准确且避免试剂损失，测定前请仔细阅读说明书（以实际收到说明书内容为准），确认试剂储存和准备是否充分，操作步骤是否清楚，且务必取 2-3 个预期差异较大的样本进行预测定，过程中问题请您及时与工作人员联系。

For Research Use Only. Not for Use in Diagnostic Procedures.

boxbio
Manufactured and Distributed by
Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.
Liandong U Valley, Tongzhou District, Beijing, China
TEL: 400-805-8228
E-MAIL: techsupport@boxbio.cn
Copyright © 2020 Boxbio, All Rights Reserved.