植酸酶检测试剂盒（微量法）

货号：PMK1222

保存：4℃避光保存 12 个月

规格：48T/96T

适用样本：组织、细胞、细菌、真菌、培养液等液体样本

产品简介

植酸酶（Phytase）又叫肌醇六磷酸酶，是一种蛋白质和糖的结合酶，是催化植酸及其盐类水解为肌醇与无机磷的一类酶的总称，属磷酸单酯水解酶。植酸酶能将食品和饲料中植酸及其盐转化为可供有机体利用的有效磷，极大的提高生物对养分的利用率，降低粪便中的磷含量，减轻对环境的污染，改善营养成分的吸收和利用。天然植酸酶广泛存在于植物、动物组织和微生物中，现多用微生物来合成植酸酶进行生产应用，植酸酶在粮食生产、畜牧养殖领域具有广泛的研究价值。 本试剂盒提供了一种简便的比色测定法，用于测定样本中的植酸酶活性。其原理是植酸酶在一定温度和 pH 值条件下，水解底物植酸钠生成无机磷与肌醇衍生物，无机磷在酸性环境中与钼酸铵显色剂反应生成蓝色复合物，在 700nm 处有特征吸收峰，根据 700nm 处吸光值变化可计算得植酸酶活性。

产品内容

试剂盒组分	规格		储存条件
	48T	96T	
提取液	50mL	100mL	4℃保存
缓冲液	7.5mL	15mL	4℃保存
试剂一	粉剂×1 瓶	粉剂×1 瓶	4℃避光保存
试剂二	7.5mL	15mL	4℃保存
显色剂	粉剂×2 瓶	粉剂×4 瓶	4℃保存
标准品（10μmol/mL 无机磷标准液）	1mL	1mL	4℃保存

自备耗材

酶标仪或分光光度计（能测700nm处的吸光度）及恒温箱
96孔板或微量玻璃比色皿、可调节式移液枪及枪头
制冰机、低温离心机
去离子水
匀浆器（如果是组织样本）
40目筛（如果是饲料样本）

试剂准备

提取液：即用型；4℃保存。
缓冲液: 即用型；使用前，平衡到室温；4℃保存。
试剂一：临用前 48T 加入 3mL 缓冲液，96T 加入 6mL 缓冲液配制，现用现配；用不完的试剂 4℃保存一个月。
试剂二：即用型；使用前，平衡到室温；4℃保存。
显色剂：临用前每瓶加0.8mL去离子水溶解，再加3.2mL试剂二混匀，现用现配；当天用完。
标准曲线设置：按下表所示用去离子水将 10μmol/mL 标准品稀释为 8、4、2、1、0.5、0.25、0.125 μmol/mL 的标准溶液。

	标准品体积（μL）	去离子水体积（μL）	标准品浓度（μmol/mL）
Std.1	800μL 10μmol/mL	200	8
Std.2	100μL of Std.1	100	4
Std.3	100μL of Std.2	100	2
Std.4	100μL of Std.3	100	1
Std.5	100μL of Std.4	100	0.5
Std.6	100μL of Std.5	100	0.25
Std.7	100μL of Std.6	100	0.125

样本制备

组织：称取 0.1g 样本，加入 1mL 提取液，冰浴匀浆，4000g 4℃离心 10min（若仍然浑浊，可延长离心时间），取上清置冰上待测。
细菌或细胞：先收集细菌或细胞到离心管内，离心后弃上清；按 500 万细菌或细胞加入 1mL 提取液的比例加入提取液，冰浴超声波破碎 5min（功率 20%或 200W，超声 3s，间隔 7s，重复 30 次），4000g，4℃离心 10min，取上清液置冰上待测。
培养液等液体样本：直接检测。若溶液浑浊则离心后取上清进行测定。
酶制剂：称取约 0.001g，加入 1mL 提取液混匀，4000g 4℃离心 10min（若仍然浑浊，可延长离心时间），取上清置冰上待测。
饲料样品：饲料烘干粉碎，过 40 目筛，称取约 0.1g，加入 1mL 提取液进行冰浴匀浆，4000g 4℃离心 10min，取上清置冰上待测。
注意：推荐使用新鲜样本，如果不立即进行实验，样本可在-80℃保存 1 个月。如需测定蛋白浓度，推荐使用 BCA 法蛋白质定量试剂盒进行样本蛋白质浓度测定。提取液中含有 BSA，含量为 0.05%，计算样本蛋白浓度时应扣除提取液中的 BSA 蛋白浓度。

实验步骤

1. 酶标仪或分光光度计预热30min以上，调节波长到700nm，分光光度计去离子水调零。
2. 在 EP 管中依次加入下列试剂：

	测定管（μL）	对照管（μL）	标准管（μL）	空白管（μL）
样本	30	30	0	0
不同浓度标准品	0	0	30	0
去离子水	0	0	0	30
37℃孵育 5min				
缓冲液	0	120	120	120
试剂一	120	0	0	0
混匀，37℃孵育 30min				
95℃，10min 终止反应，冷却至室温				
显色剂	150	150	150	150

混匀，37℃静置 15min，10000g，室温，离心 5min，取上清 200μL，测定 700nm 处吸光值，计算 $\Delta A_{测}=A_{测定}-A_{对照}$，$\Delta A_{标}=A_{标准}-A_{空白}$。（空白和标准曲线只需测一次，每个测定管需要设置一个对照管）

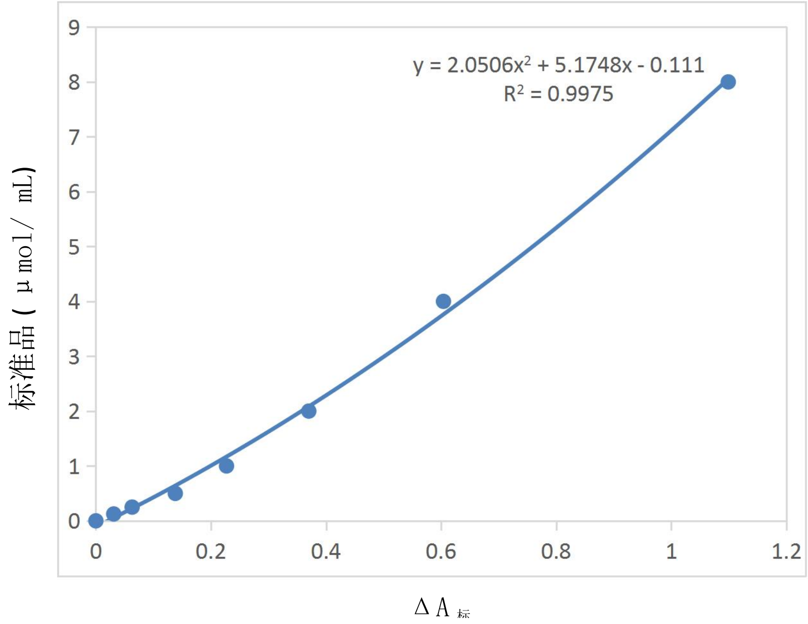
注意：为保证实验结果的准确性，需先取 1-2 个样做预实验，如果 $\Delta A_{测}$过高（高于 1.2）可用提取液稀释样本后再测定，计算结果时注意乘以稀释倍数。

结果计算

1. 标准曲线的绘制
以标准液浓度为 y 轴，$\Delta A_{标}$为 x 轴，绘制标准曲线（浓度为 y 轴更方便计算结果）。
将 $\Delta A_{测}$ 代入公式计算样本浓度（y，μmol/mL）。
2. 植酸酶活性计算
（1）按样本质量计算
酶活性单位定义：一定条件下，每 g 组织在反应体系中每分钟释放 1μmol 无机磷为 1 个酶活力单位 U。
植酸酶活性（U/g 质量）$=y\times V_{反总}\div(W\times V_{样}\div V_{样总})\div T=0.167y\div W$
（2）按照液体样本体积计算
酶活性单位定义：一定条件下，每 mL 液体在反应体系中每分钟释放 1μmol 无机磷为 1 个酶活力单位 U。
植酸酶活性（U/mL）$= y\times V_{反总}\div V_{样}\div T= 0.167y$
（3）按细菌或细胞数量计算
酶活性单位定义：一定条件下，每 10^4 个细胞在反应体系中每分钟释放 1μmol 无机磷为 1 个酶活力单位 U。
植酸酶活性（U/10^4cell）$=y\times V_{反总}\div$（细胞数量$\times V_{样}\div V_{样总}$）$\div T=0.167y\div$细胞数量
（4）按样本蛋白浓度计算
酶活性单位定义：一定条件下，每 mg 组织蛋白在反应体系中每分钟释放 1μmol 无机磷为 1 个酶活力单位 U。
植酸酶活性（U/mg prot）$=y\times V_{反总}\div$（$Cpr\times V_{样}$）$\div T=0.167y\div Cpr$
$V_{反总}$：反应总体积，0.15mL；$V_{样}$：反应中样本体积，0.03mL；$V_{样总}$：加入提取液体积，1mL；T：反应时间，30min；W：样本质量，g；细胞数量：以万计；Cpr：样本蛋白浓度，mg/mL。

结果展示

典型标准曲线



注意事项

1. 实验过程中请穿戴实验服、口罩和乳胶手套。请按照生物实验室的国家安全规定进行实验，尤其是在检测血样或其他体液时。
2. 本试剂盒仅用于实验室科学研究，如果本试剂盒用于临床诊断或任何其他用途，我们将不对任何后果负责。
3. 本试剂盒应在有效期内使用，并请严格按照说明书进行存储。
4. 不同批次号、不同厂家之间的组分不要混用；否则，可能导致结果异常。
5. 勤换吸头，避免各组分之间的交叉污染。

相关产品：

PMK1167 蔗糖酶检测试剂盒(微量法)
PMK1178 海藻糖酶检测试剂盒(微量法)
PMK1182 纤维素酶（CL）/羧甲基纤维素酶检测试剂盒(微量法)
PMK1188 几丁质酶检测试剂盒(微量法)
PMK1819 土壤脲酶（S-UE)检测试剂盒(微量法)

更多产品详情了解，请关注公众号：