

土壤甘氨酸氨基肽酶(Solid-Glycine Aminopeptidase,S-GAP)试剂盒

分光法 24 样

产品简介

土壤甘氨酸氨基肽酶（S-GAP）是一类能水解肽链 N-末端为甘氨酸的酶，由土壤微生物分泌。本试剂盒利用土壤甘氨酸氨基肽酶（S-GAP）分解甘氨酸对硝基苯胺生成对硝基苯胺，该物质在 405nm 有最大吸收峰，通过测定吸光值升高速率来计算 S-GAP 活性。

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 30mL×1 瓶	4℃保存	
试剂二	粉剂 mg×1 支	-20℃保存	临用前甩几下，使试剂落入底部，再加 2.7mL 乙醇混匀溶解。
试剂三	液体 20mL×1 瓶	4℃保存	
标准品	粉剂 mg×1 支	4℃保存	若重新做标曲，则用到该试剂。

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、恒温振荡培养箱/水浴锅、可调式移液器、天平。

土壤甘氨酸氨基肽酶（S-GAP）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 405nm，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
土样（g）	0.05	0.05
试剂一	400	500
试剂二	100	
充分混匀,37℃培养 2 小时(振荡培养或间隔 20min 手动振荡混匀几下) 。		
试剂三	300	300
混匀，8000rpm 离心 5min（若上清液不澄清可加大离心力），取 700μL 上清液至 1mL 玻璃比色皿（光径 1cm）中，405nm 下读取吸光值 A， $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}} - A_{\text{空白}}$ （每个样本做一个自身对照）。		

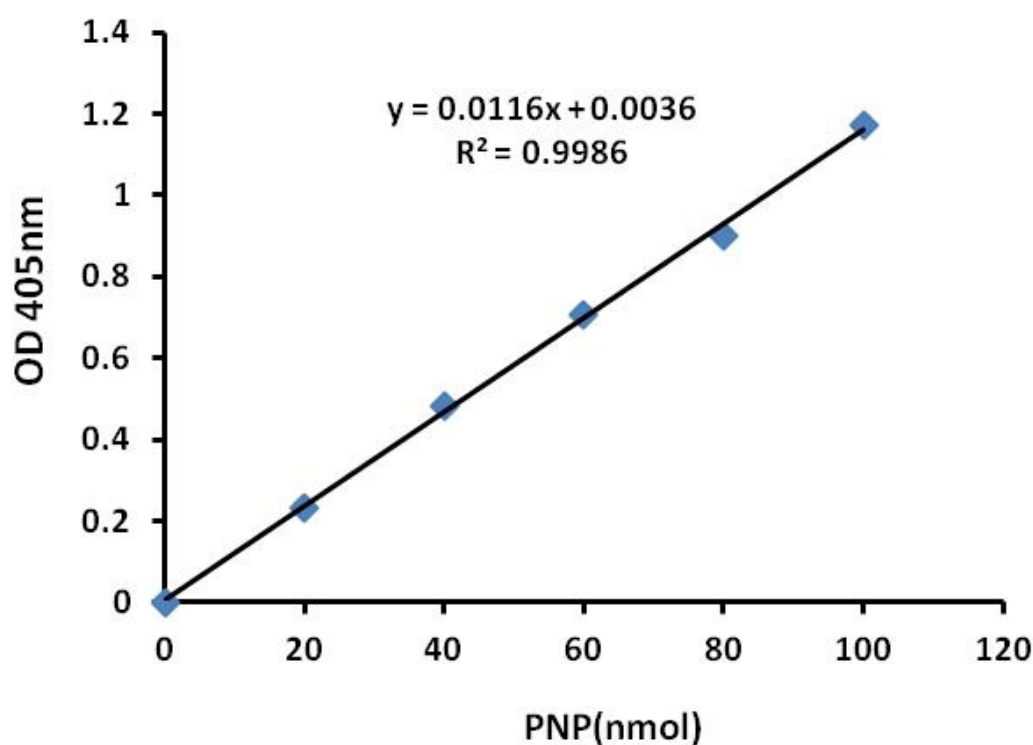
[注]：1. 若 ΔA 较小，可延长 37℃的孵育时间 T（如增至 4 小时或更长），或增加土样质量 W（如增至 0.2g）。则改变后的 T 和 W 需代入计算公式重新计算。

2. 若测定管 A 值大于 1.5 或 ΔA 大于 1.5，可缩短 37℃的孵育时间 T（如减至 0.5 小时或更短）。则改变后 T 需代入计算公式重新计算。或对最后一步的待检测上清液（包括测定管、对照管和空白管）同时用蒸馏水进行稀释，稀释倍数 D 代入计算公式。

结果计算

1、标准曲线方程:

$y = 0.0116x + 0.0036$; x 为标准品摩尔质量 (nmol), y 为 ΔA 。



2、单位定义: 每小时每克土样生成 1 nmol 对硝基苯胺定义为一个酶活力单位。

$$S\text{-LAP}(\text{nmol/h/g 土样}) = (\Delta A - 0.0036) \div 0.0116 \div W \div T \times D = 43.1 \times (\Delta A - 0.0036) \div W \times D$$

T---反应时间, 2h; W---土壤样本实际取样量, g。

D---稀释倍数, 未稀释即为 1。

附: 标准曲线制作过程:

1, 制备标准品母液 (10 $\mu\text{mol/mL}$): 临用前甩几下或离心, 使粉体落入底部, 加入 0.5mL

乙醇, 涡旋震荡溶解后再加入 0.5mL 的蒸馏水混匀, 得到 10 $\mu\text{mol/mL}$ 备用。

2, 把母液用蒸馏水稀释成以下浓度：0,0.4,0.8,1.2,1.6, 2 μ mol/mL。也可根据实际样本来调整标准品浓度。

3, 在 EP 管依次加入：50 μ L 标准品+450 μ L 试剂一+300 μ L 试剂三，混匀，取全部液体至 1mL 玻璃比色皿（光径 1cm）中，于 405nm 下读取吸光值，根据结果制作标准曲线。