

土壤 β -半乳糖苷酶(S- β -GAL)试剂盒

微板法 48 样

产品简介

土壤 β -半乳糖苷酶 (β -GAL, EC 3.2.1.23)又称 β -D-半乳糖苷半乳糖基转移酶, 参与土壤中碳水化合物的水解。

本试剂盒提供一种简单, 灵敏, 快速的测定方法, β -GAL 分解对-硝基苯- β -D-吡喃半乳糖苷生成对-硝基苯酚 (PNP), 后者在 405nm 有最大吸收峰, 通过测定吸光值升高速率来计算 β -GAL 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	粉剂 mg $\times$ 1 瓶	-20 $^{\circ}$ C保存	临用前加入 8mL 蒸馏水, 充分溶解备用, 用不完的试剂仍-20 $^{\circ}$ C保存;
试剂二	液体 30mL $\times$ 1 瓶	4 $^{\circ}$ C保存	
试剂三	液体 40mL $\times$ 1 瓶	4 $^{\circ}$ C保存	
标准品	粉剂 $\times$ 1 支	4 $^{\circ}$ C保存	若重新做标曲, 则用到该试剂

所需的仪器和用品

酶标仪、96 孔板、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 β -半乳糖苷酶 (S- β -GAL) 酶活检测

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：

取新鲜土样或干土（风干或者 37 度烘箱风干），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 酶标仪预热 30min 以上，调节波长至 405nm。

② 在 EP 管中依次加入：

试剂名称 (μL)	测定管	对照管	空白管 (仅做一次)
土样 (g)	0.1	0.1	
试剂一	150		150
蒸馏水		150	
试剂二	300	300	300
混匀，37℃振荡反应 1h			
试剂五	350	350	350
混匀，12000rpm 室温离心 10min，取上清液 200μL 于 96 孔板中，于 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 在零附近徘徊，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。

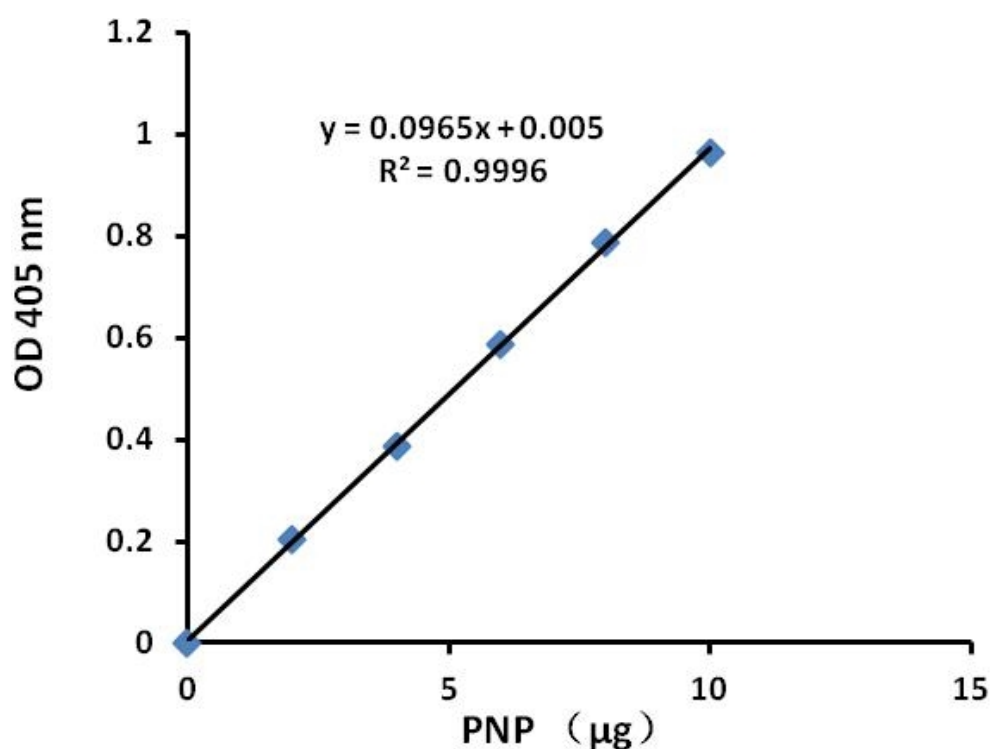
2.若测定管 A 值大于 1.5 或 ΔA 大于 1.5，可缩短 37℃的孵育时间 T（如减至 0.5 小时或更短）。则改变后 T 需代入计算公式重新计算。或对最后一步的待检测上清液（包括测

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:

$y = 0.0965x + 0.005$; x 为标准品质量 (μg), y 为 ΔA 。



2、单位定义: 每小时每克土样中产生 1nmol 对-硝基苯酚 (PNP) 定义为一个酶活单位。

$S\text{-}\beta\text{-GAL 活力}(\text{nmol/h/g 土样}) = (\Delta A - 0.005) \div 0.0965 \div Mr \times 10^3 \div W \div T \times D$

$= 74.5 \times (\Delta A - 0.005) \div W \times D$

T---反应时间, 1h; W---实际称取土样质量, g;

Mr--- PNP 相对分子质量, 139.11; 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 (1mg/mL): 向标准品 EP 管里面加入 1mL 蒸馏水。

2. 把母液稀释成以下浓度梯度的标准品：0, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5 mg/mL。也可根据实际样本来调整标准品浓度。
3. 在 EP 管中依次加入：20 μ L 标准品+130 μ L 蒸馏水+300 μ L 试剂二+350 μ L 试剂三，混匀，取 200 μ L 至 96 孔板中，于 405nm 下读取吸光值。
4. 根据结果制作标准曲线。