

土壤 β -半乳糖苷酶 (S- β -GAL) 试剂盒说明书

(货号:ADS-W-TR068 微板法 48 样)

有效期: 6 个月

一、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。

二、试剂盒的组成和配制:

试剂名称	规格	保存要求	备注
试剂一	粉剂 1 瓶	-20°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°C保存;
试剂二	液体 30mL×1 瓶	4°C保存	
试剂三	液体 40mL×1 瓶	4°C保存	
标准品	粉剂 1 支	4°C保存	若重新做标曲, 则用到该试剂

三、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。

四、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、样本处理:

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:

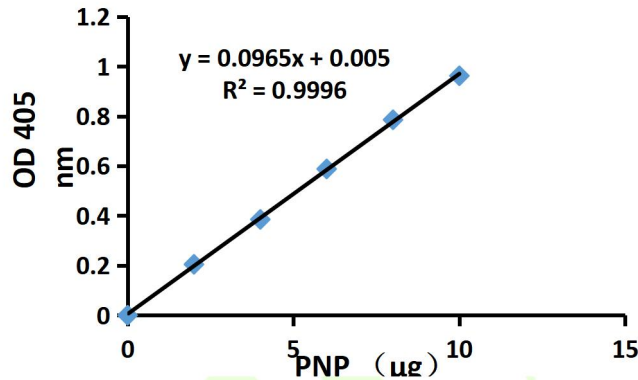
试剂名称 (μ L)	测定管	对照管	空白管 (仅做一次)
土样 (g)	0.1	0.1	
试剂一	150		150
蒸馏水		150	
试剂二	300	300	300
混匀, 37°C振荡反应 1h			
试剂三	350	350	350
混匀, 12000rpm 室温离心 10min, 取上清液 200 μ L 于 96 孔板中, 于 405nm 下读取吸光值 A, $\Delta A=A$ 测定-A 对照-A 空白 (每个样本做一个自身对照)。			

【注】：1.若 ΔA 在零附近徘徊，可延长 37°C 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°C 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。

五、结果计算：

1、标准曲线方程为 $y = 0.0965x + 0.005$ ；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。

$$\begin{aligned} S\text{-}\beta\text{-GAL 活力}(\text{nmol/h/g 土样}) &= (\Delta A - 0.005) \div 0.0965 \div \text{Mr} \times 10^3 \div W \div T \times D \\ &= 74.5 \times (\Delta A - 0.005) \div W \times D \end{aligned}$$

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 μL 标准品+130 μL 蒸馏水+300 μL 试剂二+350 μL 试剂三，混匀，取 200 μL 至 96 孔板中，于 405nm 下读取吸光值。
- 4 根据结果制作标准曲线。