

土壤谷氨酰胺酶 (S-GLS) 活性检测试剂盒说明书

微量法

货号: AC10613

规格: 100T/48S

产品组成: 使用前请认真核对试剂体积与瓶内体积是否一致, 有疑问请及时联系本公司工作人员。

试剂名称	规格	保存条件
试剂一	液体 30 mL×1 瓶	4°C保存
试剂二	粉剂×1 瓶	4°C保存
试剂三 A	液体 0.4 mL×1 支	4°C保存
试剂三 B	液体 1.6 mL×1 瓶	4°C保存
试剂四	液体 2 mL×1 瓶	常温保存
标准品	液体 1 mL×1 支	4°C保存

溶液的配制:

- 1、试剂二: 临用前加入 15 mL 蒸馏水备用。
- 2、试剂三: 临用前将试剂三 A 倒入试剂三 B 中混匀备用 (A: B=1: 4 比例配制)。
- 3、标准品: 10 $\mu\text{mol/mL}$ 氮标准液。将标准溶液用蒸馏水稀释 64 倍得 0.156 $\mu\text{mol/mL}$ 的标准溶液。

产品说明:

S-GLS (EC3.5.1.2) 存在于某些细菌以及植物根中, 催化谷氨酰胺水解成谷氨酸和氨, 在氮素代谢中具有重要调控作用, 尤其是调节游离氨含量和尿素代谢。

S-GLS催化谷氨酰胺水解成L-谷氨酸和氨, 利用靛酚蓝比色法测定氨增加的速率, 即可计算其酶活性。

注意: 实验之前建议选择 2-3 个预期差异大的样本做预实验。如果样本吸光值不在测量范围内建议稀释或者增加样本量进行检测。

需自备的仪器和用品:

台式离心机、可见分光光度计/匀浆器、微量玻璃比色皿/96孔板、可调式移液枪、30~50目筛、研钵、甲苯、冰和蒸馏水。

操作步骤:**一、样本处理 (可适当调整待测样本量, 具体比例可以参考文献)**

新鲜土样自然风干或 37°C烘箱风干, 过 30~50 目筛。

二、测定步骤

1、分光光度计/酶标仪预热30min以上, 调节波长至630nm, 分光光度计蒸馏水调零。

2、样本测定 (在EP管中加入下列试剂)

试剂名称	测定管	对照管	标准管	空白管
风干土样 (g)	0.05	0.05	-	-
甲苯 (μL)	25	25	-	-

常温静置10min。				
试剂一 (μL)	275	275	-	-
试剂二 (μL)	200	-		
蒸馏水	-	200		80
混匀, 37°C水浴1小时。10000g常温离心10 min, 取上清液于96孔板或者1.5mL EP 管中。				
上清液	80	80	-	-
标准液	-	-	80	-
试剂三	16	16	16	16
试剂四	12	12	12	12
蒸馏水	92	92	92	92

混匀, 室温放置 30min, 630nm 处读取吸光值 A, 分别记为 A 测定管、A 对照管、A 标准管、A 空白管, 计算 $\Delta A = A \text{ 测定管} - A \text{ 对照管}$, $\Delta A \text{ 标准} = A \text{ 标准管} - A \text{ 空白管}$ 。

三、酶活性计算

单位定义: 37°C下每g土壤每天催化谷氨酰胺生成1μmol 氨定义为一个酶活力单位。

$S\text{-GLS (U/g 土样)} = \Delta A \div (\Delta A \text{ 标准} \div C \text{ 标准}) \times V \text{ 酶促} \div W \div T = 1.872 \times \Delta A \div \Delta A \text{ 标准} \div W$

V酶促 酶促反应总体积, 0.5mL; T: 反应时间, 1/24d; W: 土壤质量, g; C标准 标准液浓度, 0.156μmol/mL。

注意事项:

- 1、当测定吸光值大于0.8时, 建议将上清液用蒸馏水进一步稀释后测量。
- 2、离心后若上清液仍含有少量杂质, 可将上清液再次10000g, 常温离心10min去除。
- 3、试剂三配置后尽快使用, 若发现变色则不能再用。

实验实例:

- 1、取两管 0.05g 三叶草土, 即为测定管和对照管, 按照测定步骤操作, 记为 A 测定管、A 对照管。用 96 孔板测得计算 $\Delta A = A \text{ 测定管} - A \text{ 对照管} = 0.8 - 0.175 = 0.625$, $\Delta A \text{ 标准} = A \text{ 标准管} - A \text{ 空白管} = 0.268 - 0.044 = 0.224$, 计算酶活得 $S\text{-GLS (U/g 土样)} = 1.872 \times \Delta A \div \Delta A \text{ 标准} \div W = 1.872 \times 0.625 \div 0.224 \div 0.05 = 104.46 \text{ U/g 土样}$ 。
- 2、取两管 0.05g 林土样即为测定管和对照管, 按照测定步骤操作, 记为 A 测定管、A 对照管。用 96 孔板测得计算 $\Delta A = A \text{ 测定管} - A \text{ 对照管} = 0.466 - 0.164 = 0.302$, $\Delta A \text{ 标准} = A \text{ 标准管} - A \text{ 空白管} = 0.268 - 0.044 = 0.224$, 计算酶活得 $S\text{-GLS (U/g 土样)} = 1.872 \times \Delta A \div \Delta A \text{ 标准} \div W = 1.872 \times 0.302 \div 0.224 \div 0.05 = 50.477 \text{ U/g 土样}$ 。