

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°C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， $\Delta A = A_{测定} - A_{对照} - A_{空白}$ （每个样本做一个自身对照）。			

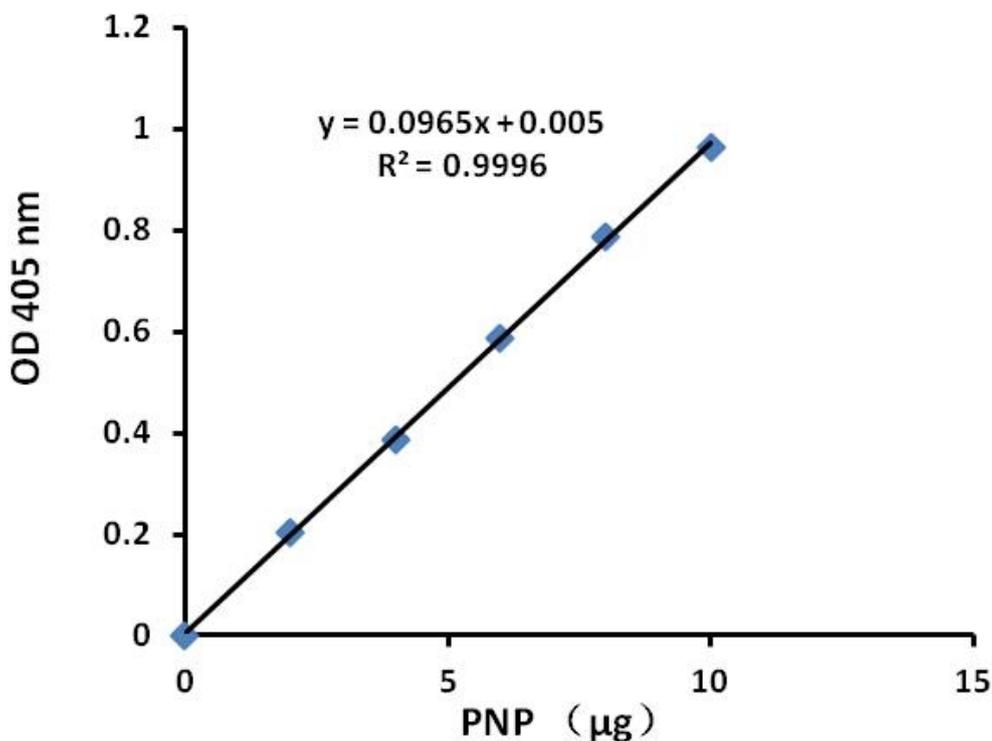
【注】 1.若 ΔA 在零附近徘徊，可延长 37°C的孵育时间 T（如增至 4 小时或更长），或增加土样质量 W（如增至 0.2g）。则改变后的 T 和 W 需代入计算公式重新计算。

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。

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。

$$S\text{-}\beta\text{-GAL 活力}(\text{nmol/h/g 土样})=(\Delta A-0.005)\div 0.0965\div Mr\times 103\div W\div T\times D$$

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

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：20µL 标准品+130µL 蒸馏水+300µL 试剂二+350µL 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。