

## 土壤谷氨酰胺酶（S-GLS）活性检测试剂盒（微量法）

产品货号：BA1343

产品规格：100T/48S

### 产品简介：

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。**

### 产品组成：

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

溶液的配制：

1. 试剂二：临用前加入15mL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 $\mu$ mol/mL氮标准液。将标准溶液用蒸馏水稀释64倍得0.156 $\mu$ mol/mL的标准溶液。

### 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℃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（ $\mu$ L）	25	25	-	-
常温静置10min。				
试剂一（ $\mu$ L）	275	275	-	-
试剂二（ $\mu$ L）	200	-	-	-
蒸馏水（ $\mu$ L）	-	200	-	80



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q：807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com

混匀，37℃水浴1小时。10000g常温离心10min，取上清液于96孔板或者1.5mLEP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℃下每 g 土壤每天催化谷氨酰胺生成 1 $\mu$ mol 氨定义为一个酶活力单位。

S-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，0.156 $\mu$ mol/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-GLS (U/g 土样) =  $1.872 \times \Delta A \div \Delta A_{\text{标准}} \div W = 1.872 \times 0.625 \div 0.224 \div 0.05 = 104.46$  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-GLS (U/g 土样) =  $1.872 \times \Delta A \div \Delta A_{\text{标准}} \div W = 1.872 \times 0.302 \div 0.224 \div 0.05 = 50.477$  U/g 土样。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com