

土壤β-半乳糖苷酶(Solid-β-Galactosidase, S-β-GAL)试剂盒

分 光 法 2 4 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×1 瓶	-20℃保存	临用前加入 4.5mL 蒸馏水, 充分溶解备用, 用不完的试剂仍-20℃保存。
试剂二	液体 20mL×1 瓶	4℃保存	
试剂三	液体 20mL×1 瓶	4℃保存	
标准品	粉剂×1 支	4℃保存	若重新做标曲, 则用到该试剂。

所 需 的 仪 器 和 用 品:

可见分光光度计、1mL 玻璃比色皿 (光径 1cm)、可调式移液器、天平、低温离心机、蒸馏水。

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、测定步骤:

① 可见分光光度计预热 30min 以上，调节波长至 405nm，蒸馏水调零。

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。			
试剂三	350	350	350
混匀，12000rpm 室温离心 10min，取全部上清液转移至 1mL 玻璃比色皿（光径 1cm）中，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）。			

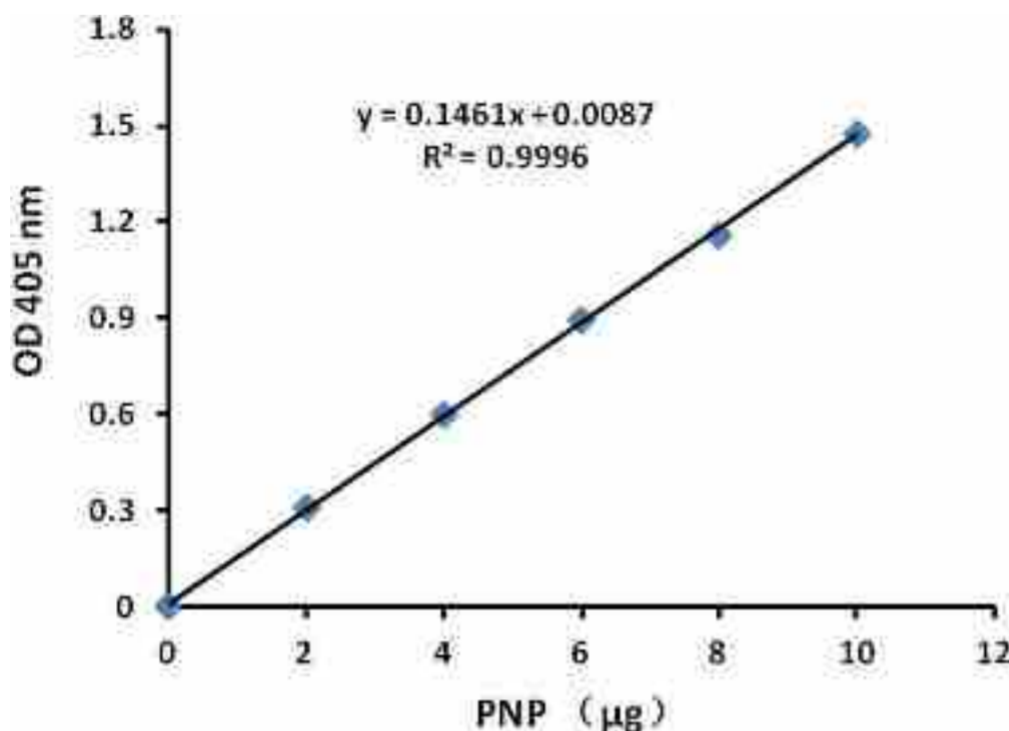
【注】: 1. 若 ΔA 在零附近徘徊，可延长 37℃的孵育时间 T（如增至 4 小时或更长），或增加土样质量 W（如增至 0.2g）。则改变后的 T 和 W 需代入计算公式重新计算。

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：

$y = 0.1461x + 0.0087$; 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。

$$\text{S-}\beta\text{-GAL 活力}(\text{nmol/h/g 土样}) = (\Delta A - 0.0087) \div 0.1461 \div \text{Mr} \times 10^3 \div W \div T \times D$$

$$= 49.2 \times (\Delta A - 0.0087) \div W \times D$$

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, 全部上清液转移至 1mL 玻璃比色皿 (光径 1cm) 中, 于 405nm 下读取吸光值。
4. 根据结果制作标准曲线。

mlbio 酶联生物
Good elisakit producers