

Soil- $\alpha$ -Glucosidase (S- $\alpha$ -GC) Activity Assay Kit土壤 $\alpha$ -葡萄糖苷酶 (S- $\alpha$ -GC) 试剂盒说明书

货号: BN72496 | 方法: 微板法 | 规格: 48 样

## 一、产品简介:

土壤 $\alpha$ -葡萄糖苷酶 ( $\alpha$ -GC, EC 3.2.1.20) 在广泛分布在微生物中, 是一类能够从含有 $\alpha$ -糖苷键底物的非还原端催化水解  $\alpha$ -1,4-糖苷键, 释放出葡萄糖, 该酶与淀粉等糖代谢密切相关, 在土壤微生物的糖类代谢方面具有重要生理功能。

土壤 $\alpha$ -葡萄糖苷酶能够催化对-硝基苯- $\alpha$ -D 吡喃葡萄糖苷生成黄色物质对-硝基苯酚 (PNP), 该物质在 405nm 有特征光吸收, 进而得到土壤 $\alpha$ -葡萄糖苷酶的活性。

## 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 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 40mL $\times$ 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。                                    |

## 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 $\alpha$ -葡萄糖苷酶 (S- $\alpha$ -GC) 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、测定步骤:

① 酶标仪预热 30min 以上, 调节波长至 405nm。

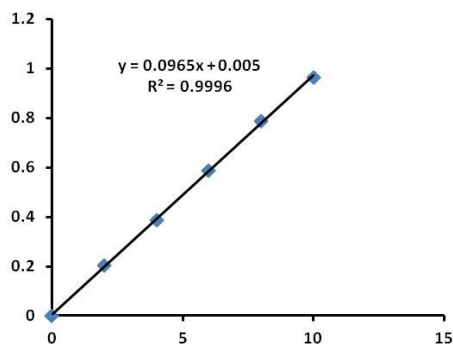
② 在 EP 管中依次加入:

| 试剂名称 ( $\mu$ L)                                                                                                                                | 测定管  | 对照管  | 空白管 (仅做一次) |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------|------|------------|
| 土样 (g)                                                                                                                                         | 0.05 | 0.05 |            |
| 试剂一                                                                                                                                            | 150  |      | 150        |
| 蒸馏水                                                                                                                                            |      | 150  |            |
| 试剂二                                                                                                                                            | 300  | 300  | 300        |
| 混匀, 37 $^{\circ}$ 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 $\mu$ L 于 96 孔板中, 405nm 下读取吸光值 A, $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}} - A_{\text{空白}}$ (每个样本需做一个自身对照)。 |      |      |            |

【注意】: 本操作流程适用于绝大多数常规样本检测, 实验条件可根据实际样本状态适度微调; 针对特殊类型样本, 我司技术支持可提供专属优化建议。

## 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 ( $\mu\text{g}$ )，y 为  $\Delta A$ 。



标准曲线示意图

说明：标准曲线由标准品测定获得，具体制作方法详见随货说明书或咨询技术支持。

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。

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

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。