



土壤 α -葡萄糖苷酶活性检测试剂盒

S- α -GC Assay Kit

微量法

产品编号: AK436M

产品规格: 100T/48S

产品组成及保存条件:

编号	规格	储存条件
AK436-A	5mL×1 瓶 (甲苯)	4°C保存; (自备)
AK436-B	粉剂×1 瓶	-20°C保存; 临用前加入10mL 蒸馏水, 充分溶解备用, 剩余试剂仍-20°C保存;
AK436-C	20mL×1 瓶	4°C保存;
AK436-D	15mL×1 瓶	4°C保存;
AK436-标准品	1mL×1 支	4°C保存

※ 正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定。

简介:

意义: α -葡萄糖苷酶 (Solid- α -Glucosidase, S- α -GC) 能够催化水解芳基或烃基与糖基原子团之间的糖苷键生成葡萄糖, 是纤维素分解酶系中重要组成成分之一, 在土壤微生物的糖类代谢方面具有重要生理功能。

原理: S- α -GC 能够催化对-硝基苯- α -D-吡喃葡萄糖苷生成对-硝基苯酚, 后者在 400nm 有特征光吸收。

自备用品:

可见分光光度计/酶标仪、台式离心机、水浴锅、可调式移液器、微量石英比色皿/96 孔板、甲苯 (不允许快递) 和蒸馏水。

粗酶液提取:

新鲜土样自然风干或 37 度烘箱风干, 过 30~50 目筛。

测定步骤:

1. 分光光度计或酶标仪预热 30min 以上, 调节波长至 400nm, 蒸馏水调零。
2. 将 5mmol/L 的标准液用蒸馏水稀释为 250、200、150、100、50、20、10 μ mol/L 的标准溶液。
3. 样本测定, (在 EP 管中依次加入下列试剂):

试剂名称	测定管 (μ L)	对照管 (μ L)	标准管 (μ L)	空白管 (μ L)
风干土样	0.02 g	0.02 g		
AK436-A	10	10		
	室温振荡混匀 15min	90°C振荡混匀 15min		
AK436-B	130			
蒸馏水		130		
AK436-C	160	160		
混匀, 37°C振荡反应 1h 后, 90°C水浴 5min (盖紧, 防止水分散失), 流水冷却, 10000g 25°C离心 10min, 取上清液 (在 EP 管或 96 孔板中加入下列试剂)				
上清液	70	70		
标准溶液			70	
蒸馏水				70

AK436-D	130	130	130	130
充分混匀，室温静置 2min 后，400nm 处测定吸光值 A，分别记为 A 对照管，A 测定管，A 标准管，A 空白管。计算 $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}}$ ， $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准管}} - A_{\text{空白管}}$ 。每个测定管需设一个对照管（标准曲线只需检测 1-2 次）。每个测定管需要设一个对照管				

S- α -GC 活力计算：

1. 标准曲线的绘制：

以标准液的浓度 ($\mu\text{mol/L}$) 为 x 轴，对应的 ΔA 标准为 y 轴，绘制标准曲线，得到标准方程 $y = kx + b$ ，将 ΔA_{α} 代入方程得到 x_1 ($\mu\text{mol/L}$)， ΔA 总代入方程得到 x_2 ($\mu\text{mol/L}$)。

2. S- α -GC 活力计算：

单位定义：每天每 g 土样中产生 1 μmol 对-硝基苯酚定义为一个酶活力单位。

S- α -GC 活力 ($\mu\text{mol/d/g}$ 土样) = $x \times V_{\text{反应}} \div W \div T = 0.36x$

注：T：反应时间，1h=1/24d；V 反应：反应体系总体积： 3×10^{-4} L；W：样本质量，0.02g。