

土壤谷氨酰胺酶（S-GLS）检测试剂盒（微量法）

货号: PMK1853

保存: 4℃避光保存 6 个月

规格: 48T/24S 96T/48S

产品简介

GLS (EC 3.5.1.2) 存在于高等动物和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。土壤 GLS 活性反应了土壤的氮素状况。本试剂盒提供了一种简单易用的比色法，用于分析土壤样本中的 GLS 活性，其原理是 S-GLS 催化谷氨酰胺水解成 L-谷氨酸和氨，利用奈氏试剂检测氨增加的速率，即可计算其酶活性。

产品内容

试剂盒组分	规格		储存条件
	48T	96T	
试剂一	7.5mL	15mL	4℃保存
试剂二	20mL	40mL	4℃保存
试剂三	30mL	60mL	4℃保存
试剂四	2.5mL	5mL	4℃保存
试剂五	1.5mL	3mL	4℃保存
试剂六	1.5mL	3mL	4℃避光保存
标准品	1mL	1mL	4℃保存

自备耗材

酶标仪或可见光分光光度计（能测 420nm 处的吸光值）及恒温培养箱

96 孔板或微量玻璃比色皿、可调节式移液枪及枪头

台式离心机、30~50 目筛

甲苯（不允许快递）、去离子水

试剂准备

注意：小管试剂开盖前，请先低速离心。

试剂一：即用型；4℃保存。

试剂二：即用型；使用前，平衡到室温；4℃保存。

试剂三：即用型；使用前，平衡到室温；4℃保存。

试剂四：即用型；使用前，平衡到室温；4℃保存。

试剂五：即用型；使用前，平衡到室温；4℃保存。

试剂六：即用型；使用前，平衡到室温；4℃避光保存。

标准品：含 8 μ mol/mL 氨氮标准液。

标准曲线设置：按下表所示用去离子水将 8 μ mol/mL 标准品稀释为 0.8、0.4、0.2、0.1、0.05、0.025、0.0125 μ mol/mL 的标准溶液。

	标准品体积	去离子水体积 (μL)	浓度 (μ mol/mL)

产品说明书

Std. 1	80μL 8 μ mol/mL	720	0.8
Std. 2	400μL of Std. 1	400	0.4
Std. 3	400μL of Std. 2	400	0.2
Std. 4	400μL of Std. 3	400	0.1
Std. 5	400μL of Std. 4	400	0.05
Std. 6	400μL of Std. 5	400	0.025
Std. 7	400μL of Std. 6	400	0.0125

注意：每次实验，请使用新配制的标准品。

样本制备

新鲜土样自然风干或 37 度烘箱风干，过 30–50 目筛。

实验步骤

1. 酶标仪或可见光分光光度计预热 30min 以上，调节波长到 420nm，可见光分光光度计去离子水调零。

2. 酶促反应（在 EP 管中加入下列试剂）：

试剂名称	测定管	对照管
风干土样(g)	0.1	0.1
甲苯 (μL)	25	25

振荡混匀，使土壤全部湿润，室温放置 15min

试剂一 (μL)	100	100
去离子水 (μL)	0	400
试剂二 (μL)	400	0

混匀，37℃孵育 2 小时

试剂三 (μL)	540	540
----------	-----	-----

混匀，8,000g，25℃离心 10min；取上清液

3. 测氨量（在 96 孔板或微量玻璃比色皿中依次加入下列试剂）：

试剂名称	空白孔 (μL)	标准孔 (μL)	测定孔 (μL)	对照孔 (μL)
上清液	0	0	130	130
标准品	0	130	0	0
去离子水	130	0	0	0
试剂四	30	30	30	30
试剂五	20	20	20	20
试剂六	20	20	20	20

充分混匀，室温静置 15min，在 420nm 处读取吸光值。空白孔记为 $A_{空}$ ，标准孔记为 $A_{标}$ ，测定孔记为 $A_{测}$ ，对照孔记为 $A_{对}$ 。计算 $\Delta A_{测}=A_{测}-A_{对}$ ， $\Delta A_{标}=A_{标}-A_{空}$ 。对照、空白和标准曲线只需测定一次。

产品说明书

注意：试剂六如出现沉淀，静置后取上清使用。

实验之前建议选择2-3个预期差异大的样本做预实验。 $\Delta A_{\text{测}}$ 小于0.001可适当加大样本量。如果 $\Delta A_{\text{测}}$ 大于1.0或测定孔和对照孔值都异常高，样本反应后的上清液可用去离子水进一步稀释，计算结果乘以进一步稀释的稀释倍数，或适当减少样本量，注意调整公式中的样本质量W。

结果计算

1. 标准曲线绘制：

以标准溶液浓度($\mu\text{mol/mL}$)为y轴， $\Delta A_{\text{标}}$ 为x轴，绘制标准曲线(浓度为y轴更方便计算结果)。将 $\Delta A_{\text{测}}$ 代入公式计算出样本浓度y($\mu\text{mol/mL}$)。

2. 样本S-GLS活性计算

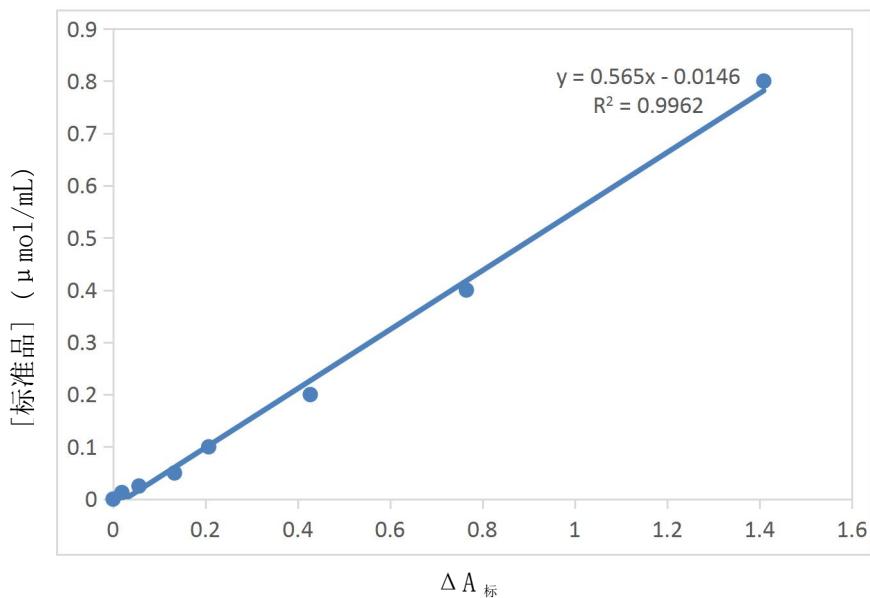
单位的定义：每天每g土样在反应体系中产生1 μmol 氨定义为一个酶活力单位。

GLS活性(U/g土样)= $y \times V_{\text{反总}} \times \text{稀释倍数} \div W \div T = 48 \times y \div W$

$V_{\text{反总}}$: 反应体系总体积: 0.5mL; 稀释倍数: $(100+400+540) \div 130 = 8$; T: 反应时间, 2h, 1/12d; W: 样本质量, g, n: 样本进一步稀释的稀释倍数。

结果展示

典型标准曲线-以下数据和曲线仅供参考，实验者需根据自己的实验建立标准曲线



注意事项

1. 实验过程中请穿戴实验服、口罩和乳胶手套。请按照生物实验室的国家规定进行实验，尤其是在检测血样或其他体液时。
2. 本试剂盒仅用于实验室科学研究，如果本试剂盒用于临床诊断或任何其他用途，我们将不对任何后果负责。
3. 本试剂盒应在有效期内使用，并请严格按照说明书进行存储。
4. 不同批次号、不同厂家之间的组分不要混用；否则，可能导致结果异常。
5. 勤换吸头，避免各组分之间的交叉污染。

相关产品：

PMK1866 土壤铵态氮检测试剂盒(微量法)

PMK1825 土壤硝酸还原酶(S-NR)检测试剂盒(微量法)

PMK1833 土壤亚硝酸还原酶(S-NiR)检测试剂盒(微量法)

更多产品详情了解，请关注公众号：

