

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 μmol/mL 氨氮标准液。

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

	标准品体积	去离子水体积（μL）	浓度（μmol/mL）
--	-------	------------	-------------

产品说明书

Std. 1	80μL 8 μmol/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. 测氮量（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

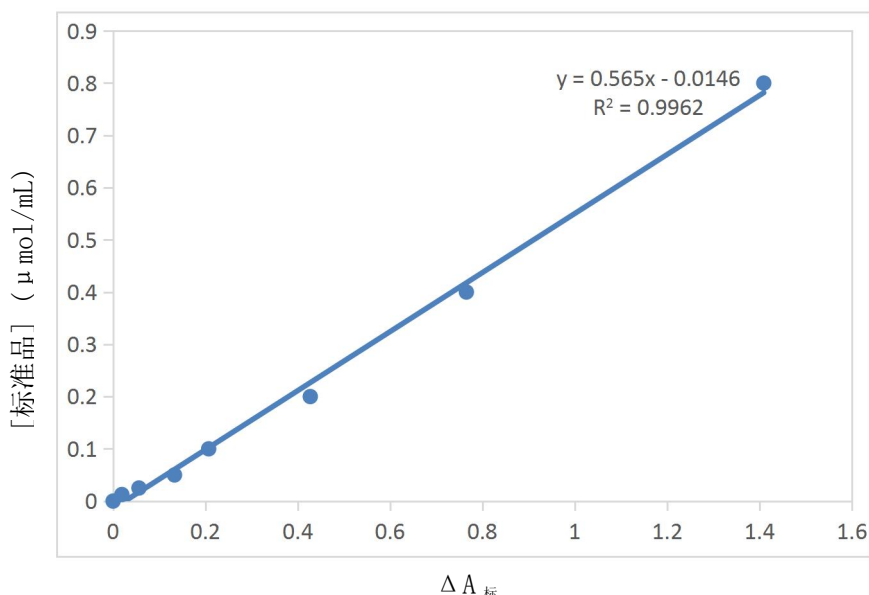
单位的定义：每天每 g 土样在反应体系中产生 $1 \mu\text{mol}$ 氨定义为一个酶活力单位。

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

$V_{\text{反应}}$ ：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安全规定进行实验，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：

