

# 土壤甘氨酸氨基肽酶(S-GAP)测试盒

## 分光法 24 样

### 产品简介:

土壤甘氨酸氨基肽酶 (S-GAP) 是一类能水解肽链 N-末端为甘氨酸的酶, 由土壤微生物分泌。本试剂盒利用土壤甘氨酸氨基肽酶 (S-GAP) 分解甘氨酸对硝基苯胺生成对硝基苯胺, 该物质在 405nm 有最大吸收峰, 通过测定吸光值升高速率来计算 S-GAP 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	液体 30mL×1 瓶	4°C保存	
试剂二	粉剂 mg×1 支	-20°C保存	临用前甩几下, 使试剂落入底部, 再加 2.7mL 乙醇混匀溶解。
试剂三	液体 20mL×1 瓶	4°C保存	
标准品	粉剂 mg×1 支	4°C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)、台式离心机、恒温振荡培养箱/水浴锅、可调式移液器、天平。

### 土壤甘氨酸氨基肽酶 (S-GAP) 活性测定:

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:

取新鲜土样风干或者 30°C烘箱风干, 先粗研磨, 过 40 目筛, 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、上机检测：

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
土样 (g)	0.05	0.05
试剂一	400	500
试剂二	100	
充分混匀,37°C 培养 2 小时(振荡培养或间隔 20min 手动振荡混匀几下)		
。		
试剂三	300	300
混匀，8000rpm 离心 5min（若上清液不澄清可加大离心力），取 700μL 上清液至 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）。		

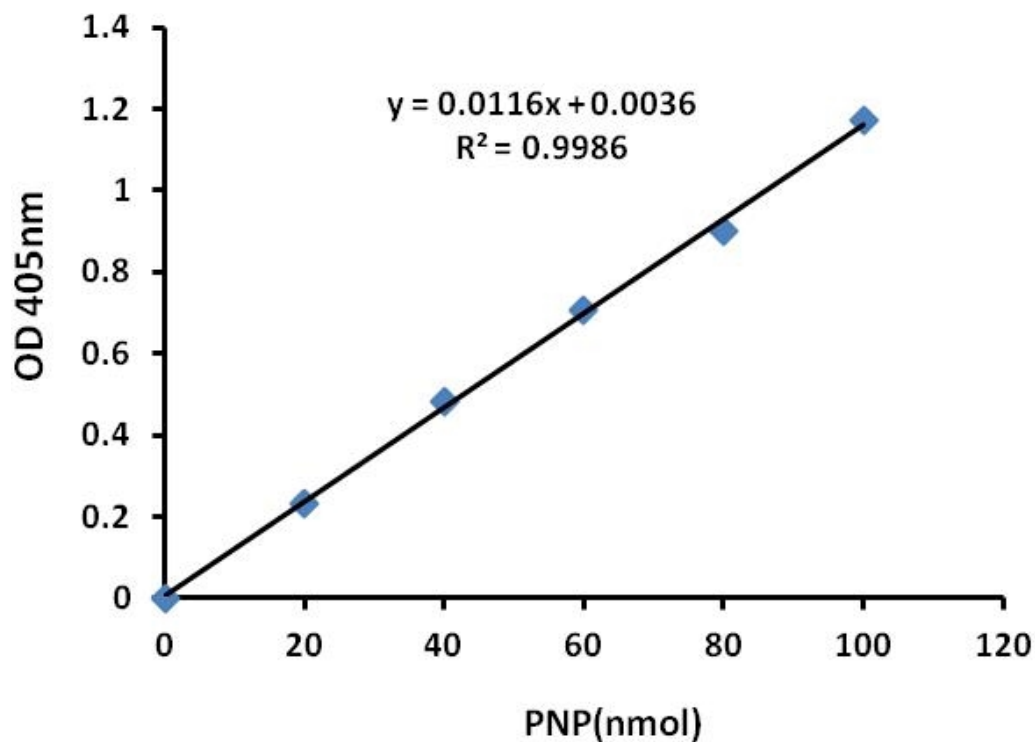
**[注]:** 1. 若 $\Delta A$  较小，可延长 37°C的孵育时间 T (如增至 4 小时或更长)，或增加土样质量 W (如增至 0.2g)。则改变后的 T 和 W 需代入计算公式重新计算。

2. 若测定管 A 值大于 1.5 或 $\Delta A$  大于 1.5，可缩短 37°C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。或对最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：

$y = 0.0116x + 0.0036$ ; x 为标准品摩尔质量 (nmol), y 为 $\Delta A$ 。



## 2、单位定义：

每小时每克土样生成 1 nmol 对硝基苯胺定义为一个酶活力单位。

$$S-LAP(\text{nmol/h/g 土样}) = (\Delta A - 0.0036) \div 0.0116 \div W \div T \times D = 43.1 \times (\Delta A - 0.0036) \div W \times D$$

T---反应时间，2h； W---土壤样本实际取样量，g。

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 (10 $\mu\text{mol/mL}$ ): 临用前甩几下或离心, 使粉体落入底部, 加入 0.5mL 乙醇, 涡旋震荡溶解后再加入 0.5mL 的蒸馏水混匀, 得到 10 $\mu\text{mol/mL}$  备用。

2, 把母液用蒸馏水稀释成以下浓度: 0,0.4,0.8,1.2,1.6, 2 $\mu\text{mol/mL}$ 。也可根据实际样本来调整标准品浓度。

3, 在 EP 管依次加入：50 $\mu$ L 标准品+450 $\mu$ L 试剂一+300 $\mu$ L 试剂三，混匀，取全部液体至 1mL 玻璃比色皿（光径 1cm）中，于 405nm 下读取吸光值，根据结果制作标准曲线。