土壤甘氨酸氨基肽酶(S-GAP)测试盒

微 板 法 4 8 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	保存条件	备注
试剂一	液体 60mL×1 瓶	4°C保存	
试剂二	粉剂 mg×1 瓶	-20°C保存	临用前甩几下，使试剂落入底部，再加 5.4mL 乙醇混匀溶解。
试剂三	液体 35mL×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:

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。

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、上机检测:

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（μL）	测定管	对照管	空白管(仅做一次)
土样（g）	005	0.05	
试剂一	400	500	400
试剂二	100		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	300
混匀，8000rpm 离心 5min（若上清液不澄清可加大离心力），取 200μL 上清液至 96 孔板中，405nm 下读取吸光值 A，△ A= A 测定- A 对照-A 空白（每个样本做一个自身对照）。			

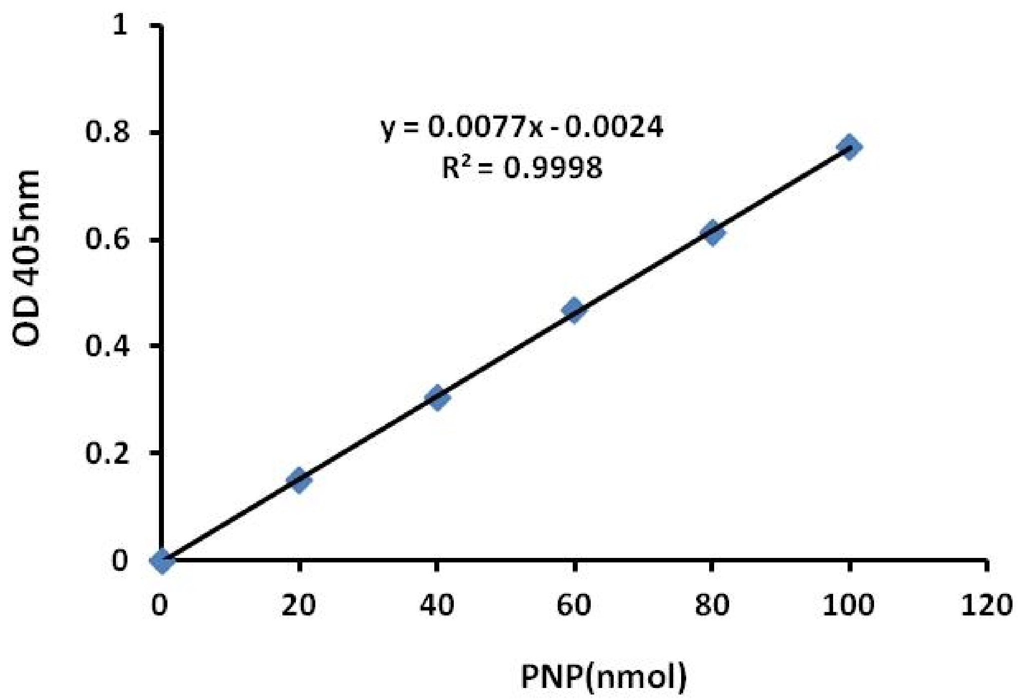
【注】1.若ΔA 较小，可延长 37°C的孵育时间 T（如增至 4 小时或更长），或增加土样质量 W（如增至 0.2g）。则改变后的 T 和 W 需代入计算公式重新计算。

2.若测定管 A 值大于 1.5 或△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 = 0.0077x - 0.0024；x 为标准品摩尔质量（nmol），y 为△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-GAP(nmol/h/g 土样)=(ΔA+0.0024)÷0.0077÷W÷T×D=65×(ΔA+0.0024)÷W×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（10μmol/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 10μmol/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, 2μmol/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：50μL 标准品+450μL 试剂一+300μL 试剂三，混匀，取 200μL 至

96 孔板中，于 405nm 下读取吸光值，根据结果制作标准曲线。