

土壤 β -葡萄糖苷酶（Solid- β -Glucosidase, S- β -GC）试剂盒说明书 （微板法 48 样）

一、产品简介：

土壤 β -葡萄糖苷酶（ β -GC, EC 3.2.1.21）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。

土壤 β -葡萄糖苷酶能够催化对-硝基苯- β -D 吡喃葡萄糖苷生成黄色物质对-硝基苯酚（PNP），该物质在 405nm 有特征光吸收，进而得到土壤 β -葡萄糖苷酶的活性。

二、试剂盒的组成和配制：

试剂名称	规格	保存要求	备注
试剂一	粉剂 mg \times 1 瓶	-20 $^{\circ}$ C 保存	临用前加入 8mL 蒸馏水，充分溶解 备 用，用不完的试剂仍-20 $^{\circ}$ C 保存；
试剂二	液体 40mL \times 1 瓶	4 $^{\circ}$ C 保存	
试剂三	液体 40mL \times 1 瓶	4 $^{\circ}$ C 保存	
标准品	粉剂 \times 1 支	4 $^{\circ}$ C 保存	若重新做标曲，则用到该试剂

三、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。

四、土壤 β -葡萄糖苷酶（S- β -GC）酶活检测：

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、样本处理：

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（ μ L）	测定管	对照管	空白管（仅做一次）
土样（g）	0.05	0.05	
试剂一	150		150
蒸馏水		150	
试剂二	300	300	300
混匀， 37 $^{\circ}$ C 振荡反应 1h			
试剂三	350	350	350
混匀，12000rpm 室温离心 10min，取上清液 200 μ L 于 96 孔板中，于 405nm 下读取吸光值 A， $\Delta A = A_{测定} - A_{对照} - A_{空白}$ （每个样本做一个自身对照）。			

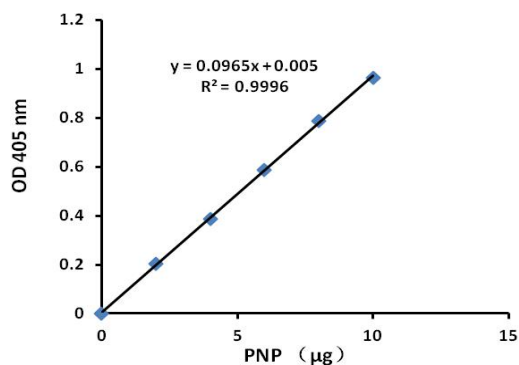
【注】：1.若 ΔA 在零附近徘徊，可延长 37 $^{\circ}$ C 的孵育时间 T（如增至 4 小时或更长），或增加土样质量 W（如增至 0.2g）。则改变后的 T 和 W 需代入计算公式重新计算。

2.若测定管 A 值大于 1.5 或 ΔA 大于 1.5，可缩短 37 $^{\circ}$ 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。

五、结果计算:

1、标准曲线方程为 $y = 0.0965x + 0.005$; x 为标准品质量 (μg), y 为 ΔA 。



2、单位定义: 每小时每克土样中产生 1nmol 对-硝基苯酚 (PNP) 定义为一个酶活单位。

$$\begin{aligned} \text{S-}\beta\text{-GC 活力}(\text{nmol/h/g 土样}) &= (\Delta A - 0.005) \div 0.0965 \div \text{Mr} \times 10^3 \div \text{W} \div \text{T} \times \text{D} \\ &= 74.5 \times (\Delta A - 0.005) \div \text{W} \times \text{D} \end{aligned}$$

T---反应时间, 1h;

W---实际称取土样质量, g;

Mr--- PNP 相对分子质量, 139.11;

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 (1mg/mL): 向标准品 EP 管里面加入 1mL 蒸馏水。
- 2 把母液稀释成以下浓度梯度的标准品: 0, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5 mg/mL。也可根据实际样本来调整标准品浓度。
- 3 在 EP 管中依次加入: 20 μL 标准品+130 μL 蒸馏水+300 μL 试剂二+350 μL 试剂三, 混匀, 取 200 μL 至 96 孔板中, 于 405nm 下读取吸光值。
- 4 根据结果制作标准曲线。