

土壤 α -半乳糖苷酶（S- α -GAL）试剂盒说明书

一、产品简介：

土壤 α -半乳糖苷酶（ α -GAL，EC 3.2.1.22）又称 α -D-半乳糖苷半乳糖基转移酶，参与土壤中碳水化合物的水解。

本试剂盒提供一种简单，灵敏，快速的测定方法， α -GAL分解对-硝基苯- α -D-吡喃半乳糖苷生成对-硝基苯酚（PNP），后者在405nm有最大吸收峰，通过测定吸光值升高速率来计算 α -GAL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 8.5mL 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 30mL $\times$ 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 α -半乳糖苷酶（S- α -GAL）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。

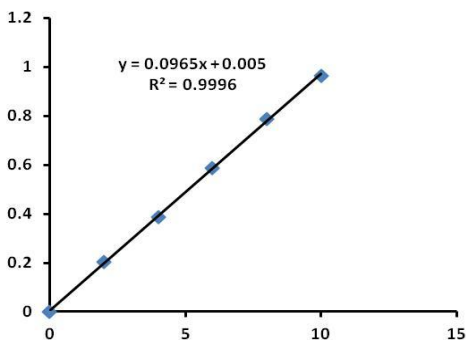
② 在 EP 管中依次加入：

试剂名称（ μ L）	测定管	对照管	空白管（仅做一次）
土样（g）	0.1	0.1	
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）。			

注意：本操作流程适用于绝大多数常规样本检测，实验条件可根据实际样本状态适度微调；针对特殊类型样本，我司技术支持可提供专属优化建议。

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 。



标准曲线示意图

说明：标准曲线由标准品测定获得，具体制作方法详见随货说明书或咨询技术支持。

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。

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

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。