

土壤谷氨酰胺酶(S- GLS) 检测试剂盒（微量法）

注意：正式测定之前选择 2-3 个预期差异大的样本做预测定。

测定意义：

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。

测定原理：

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。

试剂组成和配制：

试剂一：液体 15 mL×1 瓶，4 °C 保存；

试剂二：液体 40 mL×1 瓶，4 °C 保存；临用前加入 50mL 蒸馏水充分溶解待用；用不完的试剂 4°C 保存。

试剂三：液体 60 mL×1 瓶，常温保存；

试剂四：液体 5 mL×1 瓶，常温保存；

试剂五：液体 3 mL×1 瓶，常温保存；

试剂六：液体 3 mL×1 瓶，常温避光保存。

测定步骤：

1、分光光度计或酶标仪预热 30min 以上，调节波长至 420nm，蒸馏水调零。

2、样品测定（在 EP 管中加入下列试剂）：

试剂名称 (uL)	测定管	对照管
样本	0.1	
甲苯	25	25
振荡混匀，室温放置 15min		
试剂一	100	100
试剂二	400	400
混匀，37°C 水浴 2 小时		
试剂三	525	525
混匀，8000 g，25°C 离心 10 min；取上清液，依次加入下列试剂		
上清液	130	130
试剂四	30	30
试剂五	20	20
试剂六	20	20

混匀，室温静置 15min，420nm 处读取测定管和对照管吸光值，

计算 $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}}$ ，对照管只要做一管。

注意：试剂六如出现沉淀，静置后取上清使用。

酶活性计算：

a. 用微量石英比色皿测定的计算公式如下

标准条件下测定的回归方程为

$$y = 3.8488x + 0.0057; \quad x \text{ 为标准品浓度 } (\mu\text{mol/mL}), y \text{ 为吸光值 } A.$$

单位定义：每 g 土样每 min 催化谷氨酰胺生成 1nmol 氨定义为一个酶活力单位。

$$\begin{aligned} \text{S-GLS (nmol/min/g 土样)} &= (\Delta A - 0.0057) \div 3.8488 \times V_{\text{反应}} \div W \div T \\ &= 2.27 \times (\Delta A - 0.0057) \div W. \end{aligned}$$

V 反应：反应体系总体积：1.05mL；

T：反应时间，2h=120min；

W：样本质量，g；

1000， μmol 到 nmol 换算系数。

b. 用 96 孔板测定的计算公式如下

标准条件下测定的回归方程为

$$y = 1.9244x + 0.0057; \quad x \text{ 为标准品浓度 } (\mu\text{mol/mL}), y \text{ 为吸光值 } A.$$

单位定义：每 g 土样每 min 催化谷氨酰胺生成 1nmol 氨定义为一个酶活力单位。

$$\begin{aligned} \text{S-GLS (nmol/min/g 土样)} &= (\Delta A - 0.0057) \div 1.9244 \times V_{\text{反应}} \div W \div T \\ &= 4.55 \times (\Delta A - 0.0057) \div W. \end{aligned}$$

V 反应：反应体系总体积：0.525mL；

T：反应时间，2h=120min；

W：样本质量，g；

1000， μmol 到 nmol 换算系数。