CheKine™ 土壤β-葡萄糖苷酶（S-β-GC）活性检测试剂盒（微量法）

货号: KTB4022　　规格: 48 T/24 S　96 T/48 S　　批号：见产品标签

≠	**检测范围：**1.563 -100 μM（标准品的检测范围，对应样本实际含量 0.563 - 36 U/g）		**灵敏度：**1.563 μM（标准品的灵敏度，对应样本实际含量 0.563 U/g）
	适用样本：土壤样本		
	保质期：-20℃避光保存 6 个月		

01 背景与原理

土壤β-葡萄糖苷酶（Soil β-glucosidase，S-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。

本试剂盒检测原理是 S-β-GC 能够催化对-硝基苯-β-D-吡喃葡萄糖苷生成对-硝基苯酚，后者在 400 nm 有特征光吸收。

02 包装清单

试剂盒组分	规格		储存要求
	48 T	96 T	
Reagent Ⅰ	Powder×1 vial	Powder×1 vial	-20℃，避光保存
Reagent Ⅱ	14 mL	28 mL	4℃
Reagent Ⅲ	13 mL	26 mL	4℃
Standard	1 mL	1 mL	4℃，避光保存

***请在实验前检查各组分的量。**

***各组分在规格基础上额外提供 10%的量用于进行标准曲线制作或预实验。**

03 自备仪器与试剂

自备资源类型	资源名称	备注
仪器	酶标仪	能测 400 nm 处的吸光度
耗材	96 孔酶标板	普通透明板
试剂	去离子水/甲苯	试剂配制/处理土壤样本
其他	烘箱、30-50 目筛、离心机、恒温水浴锅、分析天平、可调节式移液枪及枪头	检测量较大时合理使用多通道移液器有助于提高实验效率

04 注意事项

- **正式检测前，建议选择 2-3 个预期差异较大的样本进行预实验。**
- 本试剂盒兼容分光光度计检测，请按照分光光度计检测要求按比例调节检测试剂配制量。如有疑问，可咨询本司技术人员（400-6800-830）。
- 建议实验者自行建立标准曲线以提高结果准确度。如未自行建立标准曲线，可参考结果展示部分的典型标准曲线公式进行结果计算。
- 生化检测试剂普遍具有刺激性、生物毒性等，为了您的安全和健康，**请在实验全程做好生物安全防护**，穿戴实验服、口罩、手套、头套等安全护具，在通风橱、生物安全柜中进行实验。
- 本产品仅供科学研究使用，不适用于临床诊断。

05 实验流程

05-1 试剂准备

05-1-1 试剂准备

试剂名称	试剂准备	注意事项
Working Reagent Ⅰ	临用前配制；48 T 加入 5 mL 去离子水，96 T 加入 10 mL 去离子水，充分溶解备用	未用完的试剂-20℃分装避光保存一个月，禁止反复冻融
Reagent Ⅱ	即用型；使用前平衡到室温	4℃保存
Reagent Ⅲ	即用型；使用前平衡到室温	4℃保存
Standard	即用型；使用前，平衡到室温；5 mM 对硝基苯酚标准液	4℃保存；**Standard 有毒，建议在通风橱进行实验**

05-1-2 标准品配制

使用 5 mM 对硝基苯酚标准液，按下表所示，进行下一步稀释。每次实验都要做一次标准品检测，制作标曲；稀释后的标准品溶液不稳定，必须在 4 小时内使用。

序号	Standard 体积	去离子水体积（μL）	浓度（μM）
1	20 μL 5 mM Standard	980	100
2	500 μL of 100 μM	500	50
3	500 μL of 50 μM	500	25
4	500 μL of 25 μM	500	12.5
5	500 μL of 12.5 μM	500	6.25
6	500 μL of 6.25 μM	500	3.125
7	500 μL of 3.125 μM	500	1.563
空白	0	500	0

05-2 样本制备

注意：推荐使用新鲜样本，如果不立即进行实验，样本可在-80℃保存 1 个月。

- 土壤样本：新鲜土样自然风干或 37℃烘箱风干，过 30-50 目筛。

05-3 实验步骤

1. **酶标仪准备**：预热 30 min 以上，调节波长到 400 nm。

2. **检测体系配制**：标准曲线只需测定 1 次，每个测定孔都需设置一个对照孔。在 1.5 mL EP 管中按照如下方式操作：

试剂	测定管（μL）	对照管（μL）	标准管（μL）	空白管（μL）
风干土样（g）	0.02	0.02	0	0
甲苯	10	10	0	0
	室温振荡混匀 15 min	90℃孵育 15 min，期间振荡混匀 4-5 次		
Working Reagent Ⅰ	130	0	0	0
去离子水	0	130	0	0
Reagent Ⅱ	160	160	0	0
混匀，37℃振荡反应 1 h 后，90℃水浴 5 min（盖紧，防止水分散失），流水冷却，10000 g，25℃离心 10 min，取上清液。在 1.5 mL EP 管中按照如下方式操作：				
去离子水	0	0	0	84
上清液	84	84	0	0
Standard	0	0	84	0
Reagent Ⅲ	156	156	156	156

3. **吸光度检测：**充分混匀，10000 g，25℃离心 5 min 后，取 200 μL 转移至 96 孔板中，测定 400 nm 处吸光度，分别记为 $A_{测定}$、$A_{空白}$、$A_{标准}$和 $A_{对照}$。

06 结果计算

06-1 自动计算

为帮助您更轻松、准确地完成相关计算，我们特在官网提供了“在线计算器小工具”。您无需手动计算，只需在网页上输入数值，即可快速获得可靠结果。访问方式：请扫描右侧**二维码**或访问官网[https://www.abbkine.cn] > 进入“**技术中心**”> 查找“**在线计算器**”**工具**。

06-2 手动计算

以下为您提供的推导过程计算公式和简洁计算公式，两者完全相等。

1. 数据处理

计算$\Delta A_{测定}=A_{测定}-A_{对照}$，$\Delta A_{标准}=A_{标准}-A_{空白}$

2. 标准曲线绘制

以标准溶液浓度为 y 轴，$\Delta A_{标准}$为 x 轴，绘制标准曲线，得到标准方程，将$\Delta A_{测定}$带入方程得到 y (μM)。

3. 样本 S-β-GC 活性计算

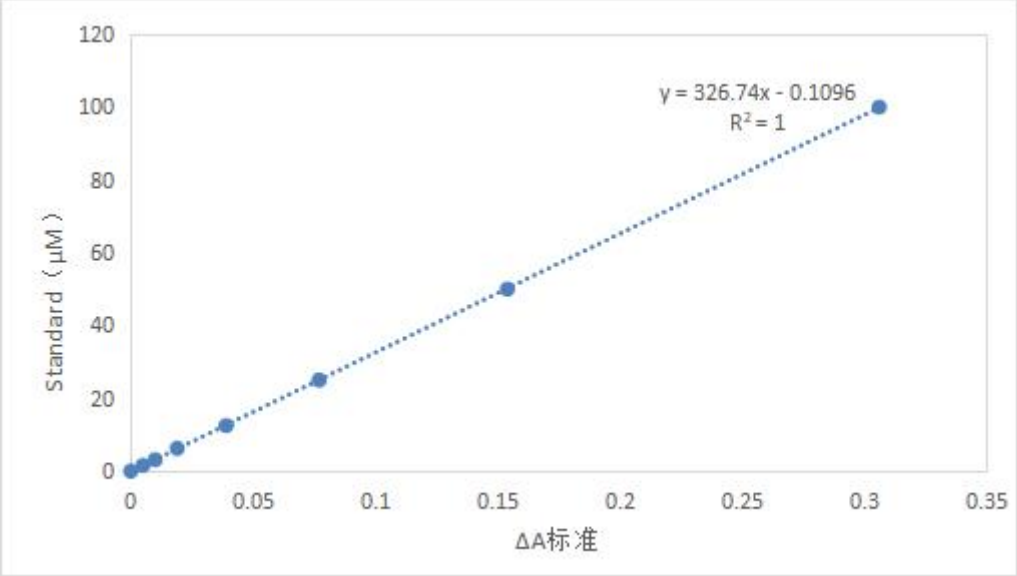
单位的定义：每天每 g 土样中产生 1 μmol 对-硝基苯酚定义为一个酶活力单位。

S-β-GC (U/g)=$y\times V_{反总}\div W\div T$**=0.0072×y÷W**

T：反应时间，1 h=1/24 d；$V_{反总}$：反应体系总体积：3×10^{-4} L；W：样本质量，0.02 g。

07 结果展示

典型标准曲线：y=326.74x-0.1096，R^2=1



示例-1：取 0.02 g 的土壤，按照测定步骤操作，用 96 孔板进行检测。测得$\Delta A_{测定}=A_{测定}-A_{对照}$=0.483-0.236=0.247，代入标准曲线，计算 y=80.595。测得 S-β-GC (U/g)=0.0072×y÷W=29.01 U/g。

08 FAQ

- **检测得到的样本$\Delta A_{测定}$过高或者过低怎么办？**

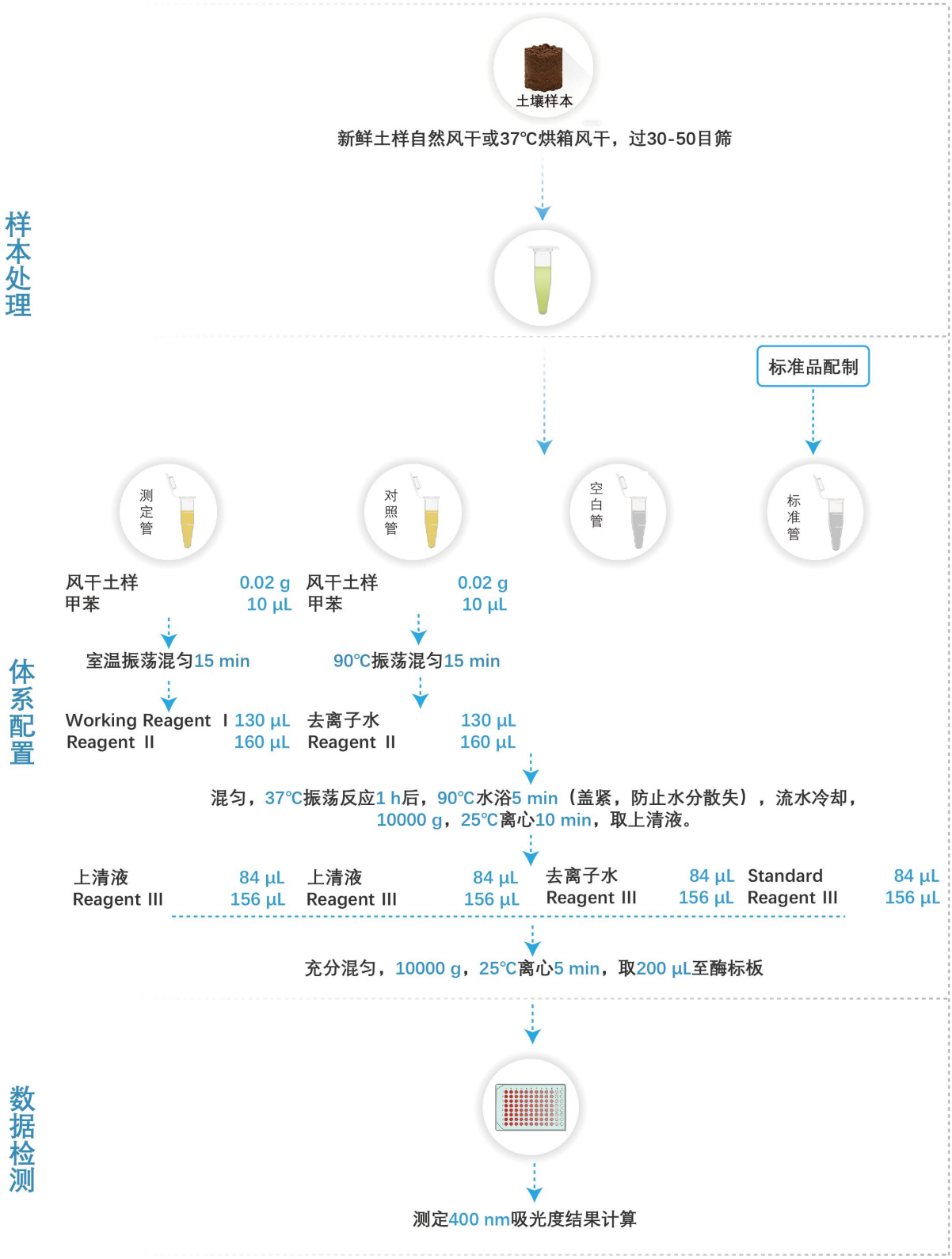
如果$\Delta A_{测定}$小于 0.005，可适当增大样本量，同步修改计算公式；如果$\Delta A_{测定}$大于 100 μM 标准品的$\Delta A_{标准}$值，样本上清液可用去离子水进一步稀释，或减少样本提取用量，再重新进行测定。

09 相关产品

货号	试剂盒名称
KTB4023	CheKine™ 土壤过氧化物酶（S-POD）活性检测试剂盒（微量法）
KTB4024	CheKine™ 土壤酸性蛋白酶（S-ACPT）活性检测试剂盒（微量法）
KTB4025	CheKine™ 土壤β-木糖苷酶（S-β-XYS）活性检测试剂盒（微量法）

CheKine™ 土壤β-葡萄糖苷酶（S-β-GC）活性检测流程示意图

（Abbkine 货号 ： KTB4022）



V1.0