

土壤N-乙酰-β-D-葡萄糖苷酶 (S-NAG) 活性检测试剂盒 (可见分光光度法)

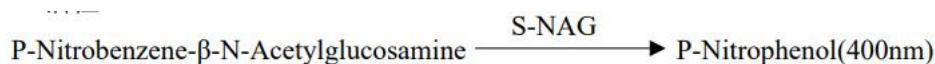
产品货号: BA1952

产品规格: 50T/24S

产品简介:

土壤N-乙酰-β-D-葡萄糖苷酶 (S-NAG) 是土壤微生物分泌的溶酶体中的一种酸性水解酶。其活性变化与机体某些病理状态密切相关。

S-NAG分解对硝基苯β-N-乙酰氨基葡萄糖苷生成对-硝基苯酚, 后者在400nm有最大吸收峰, 通过测定吸光值升高速率来计算NAG活性。



注意: 实验之前建议选择2-3个预期差异大的样本做预实验。如果样本吸光值不在测量范围内建议稀释或者增加样本量进行检测。

产品组成:

试剂名称	规格	保存条件
试剂一	液体40mL×1瓶	2-8℃
试剂二	粉剂×2瓶	-20℃
试剂三	液体60mL×1瓶	2-8℃
标准品	液体1mL×1支	2-8℃

溶液的配制:

1. 试剂二: 临用前取1瓶加入4mL蒸馏水溶解, 用不完的试剂-20℃分装保存4周;
2. 标准品: 5mmol/L的对硝基苯酚溶液。

需自备的仪器和用品:

可见分光光度计、台式离心机、水浴锅/恒温培养箱、可调式移液器、1mL玻璃比色皿、研钵、冰、30-50目筛、蒸馏水。

操作步骤:

一、样本处理 (可适当调整待测样本量, 具体比例可以参考文献)

新鲜土样自然风干或37℃烘箱风干, 过30-50目筛。

二、测定步骤

1. 分光光度计预热30min, 波长调至400nm, 蒸馏水调零。
2. 标准溶液的稀释: 临用前取20 μL 5mmol/L的对硝基苯酚溶液, 加入980 μL试剂一, 充分混匀, 配制成100 μmol/L标准液使用, 现用现配。(实验中每管需要500 μL, 为减小实验误差, 故配制大体积。)
3. 加样表:

试剂名称 (μL)	测定管	对照管	标准管	空白管
风干土样 (g)	0.1	0.1	-	-
试剂一	475	475	-	-



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司
Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址: 上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话: 400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱: saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com

试剂二	125	-	-	-
混匀，于37℃水浴锅/恒温培养箱反应1h 后，立即沸水浴5min（盖紧，防止水分散失），流水/冰浴冷却				
试剂二	-	125	-	-
12000g 25℃离心10min，取上清液				
上清液	500	500	-	-
标准品	-	-	500	-
蒸馏水	-	-	-	500
试剂三	1000	1000	1000	1000
室温静置2min后，10000g常温离心5min，取上清测定400nm处的吸光值A。分别记为A测定管、A对照管、A标准管、A空白管。计算 $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}}$ ， $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准管}} - A_{\text{空白管}}$ 。每个测定管设一个对照管。空白管和标准管只需做1-2次。				

三、S-NAG活力计算

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

S-ASF活力 (U/g 土样) = $\Delta A_{\text{测定}} \div (\Delta A_{\text{标准}} \div C_{\text{标准}}) \times V_{\text{反应}} \div W \div T = 1.44 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div W$

T: 反应时间, 1h=1/24d; V反应: 反应体系总体积: 6 $\times 10^{-4}$ L; C标准: 标准溶液浓度, 100 μ mol/L; W: 样本质量, g。

注意事项:

当 ΔA 大于1时，建议将上清液稀释后进行测定；当 ΔA 小于0.02时，建议延长反应时间。计算公式中注意乘以 稀释倍数或注意反应时间变化。

实验实例:

1. 取两管 0.1g 三叶草土，即为测定管和对照管，按照测定步骤操作，记为 A 测定管、A 对照管。计算 $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}} = 0.509 - 0.434 = 0.075$ ， $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准管}} - A_{\text{空白管}} = 0.604 - 0.002 = 0.602$ ，计算酶活得：

S-NAG 活力 (U/g 土样) = $1.44 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div W = 1.44 \times 0.075 \div 0.602 \div 0.1 = 1.79402$ U/g 土样。

2. 取两管 0.1g 林土样，即为测定管和对照管，按照测定步骤操作，记为 A 测定管、A 对照管。计算 $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}} = 0.574 - 0.497 = 0.077$ ， $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准管}} - A_{\text{空白管}} = 0.604 - 0.002 = 0.602$ ，计算酶活得：

S-NAG 活力 (U/g 土样) = $1.44 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div W = 1.44 \times 0.077 \div 0.602 \div 0.1 = 1.84186$ U/g 土样。



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司
 Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址:上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话: 400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱: saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com