

土壤N-乙酰-β-D-葡萄糖苷酶 (S-NAG) 活性检测试剂盒 (微量法)

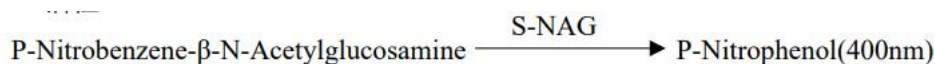
产品货号: BA1953

产品规格: 100T/48S

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30mL×1瓶	2-8℃
试剂二	粉剂×2瓶	-20℃
试剂三	液体30mL×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2.5mL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/酶标仪、台式离心机、水浴锅/恒温培养箱、可调式移液器、微量玻璃比色皿/96孔板、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/酶标仪预热30min, 波长调至400nm, 分光光度计蒸馏水调零。
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100 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)	0.03	0.03	-	-
试剂一	142	142	-	-



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	38	-	-	-
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	-	38	-	-
12000g 25℃离心10min，取上清液				
上清液	100	100	-	-
标准品	-	-	100	-
蒸馏水	-	-	-	100
试剂三	200	200	200	200
室温静置2min后，10000g常温离心5min，吸取200 μL上清于微量玻璃比色皿或直接在96孔板中，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 ΔA测定=A测定管-A对照管，ΔA标准=A标准管-A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1μmol对-硝基苯酚定义为一个酶活力单位。

S-ASF活力 (U/g 土样) = $\Delta A_{\text{测定}} \div (\Delta A_{\text{标准}} \div C_{\text{标准}}) \times V_{\text{反应}} \div W \div T = 0.432 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div W$

T: 反应时间, 1h=1/24d; V反应: 反应体系总体积: 1.8×10^{-4} L; C标准: 标准溶液浓度, 100μmol/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:

- 取两管 0.03g 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。用 96 孔板测得计算 $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}} = 0.305 - 0.271 = 0.034$ ， $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准管}} - A_{\text{空白管}} = 0.412 - 0.046 = 0.366$ ，计算酶活得：

S-NAG 活力 (U/g 土样) = $0.432 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div W = 0.432 \times 0.034 \div 0.366 \div 0.03 = 1.3377 \text{U/g 土样}$ 。

- 取两管 0.03g 林土样，即为测定管和对照管，按照测定步骤操作，用 96 孔板测得计算 $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}} = 0.325 - 0.278 = 0.047$ ， $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准管}} - A_{\text{空白管}} = 0.412 - 0.046 = 0.366$ ，计算酶活得：

S-NAG 活力 (U/g 土样) = $0.432 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div W = 0.432 \times 0.047 \div 0.366 \div 0.03 = 1.8492 \text{U/g 土样}$ 。



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