

土壤 N-乙酰-β-D-葡萄糖苷酶 (S-NAG) 试剂盒说明书

(货号: G0321F 分光法 24 样)

一、产品简介:

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

S-NAG 分解 4-硝基酚-β-N-乙酰氨基葡萄糖生成对-硝基苯酚 (PNP), 在 415nm 处检测该产物的升高速率, 来计算 S-NAG 活力大小。

二、试剂盒组分与配制:

试剂名称	规格	保存要求	备注
试剂一	粉剂 mg×1 支	-20℃ 保存	临用前加入 4.5mL 蒸馏水, 充分溶解备用, 用不完的试剂仍-20℃ 保存;
试剂二	液体 20mL×1 瓶	4℃ 保存	
试剂三	液体 20mL×1 瓶	4℃ 保存	
标准品	粉剂×1 支	4℃ 保存	若重新做标曲, 则用到该试剂

三、所需的仪器和用品:

可见分光光度计、1mL 玻璃比色皿 (光径 1cm)、台式离心机、水浴锅或恒温培养箱、可调式移液器。

四、土壤 N-乙酰-β-D-葡萄糖苷酶 (S-NAG) 活性测定:

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、样本的制备:

取新鲜土样风干或者 37℃ 烘箱风干, 先粗研磨, 过 40 目筛网, 再次研磨过 60 目筛网, 备用。

【注】: 土壤风干, 减少土壤中水分对于实验的干扰; 土壤过粗细两次筛, 保证取样的均匀细腻;

2、上机检测:

① 可见分光光度计预热 30min 以上, 调节波长至 415nm, 蒸馏水调零。

② 在 EP 管中依次加入:

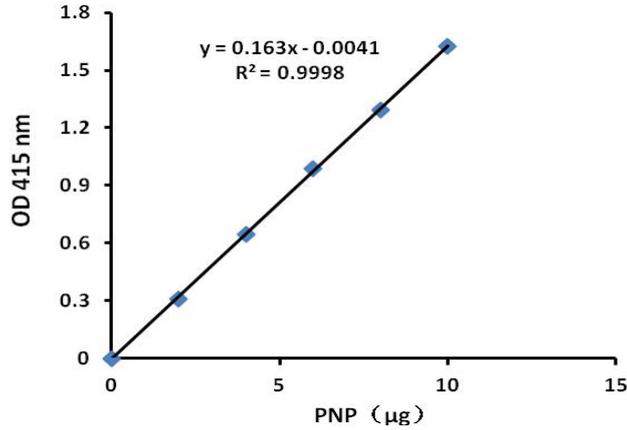
试剂名称 (μL)	测定管	对照管
风干土样 (g)	0.02	0.02
试剂一	150	
蒸馏水		150
试剂二	300	300
混匀, 37℃ 振荡反应 1h		
试剂三	350	350
混匀, 12000rpm, 离心 10min, 取全部上清液于 1mL 玻璃比色皿中, 415nm 下读取吸光值 A, $\Delta A = A_{测定} - A_{对照}$ (每个测定管需设一个对照管)。		

【注】若 ΔA 在零附近徘徊, 可加大土壤样本量或者延长反应时间, 则改变后的样本量

W 和反应时间 T 需代入计算公式重新计算。

五、结果计算:

1、标准曲线: $y = 0.163x - 0.0041$; x 为标准品质量 (μg), y 为吸光值 ΔA 。



2、单位定义：每小时每克干土中产生 1µg 对-硝基苯酚（PNP）定义为一个酶活力单位。
S-NAG 活力 (µg/h/g 土样) = $(\Delta A + 0.0041) \div 0.163 \div W \div T = 6.14 \times (\Delta A + 0.0041) \div W$

T---反应时间，1h；

W---实际称取干土质量；

PNP 对分子质量----139.11。

附：标准曲线制作过程：

- 1 制备标准品母液（1mg/mL）：向标准品 EP 管里面加入 1ml 蒸馏水。
- 2 把母液稀释成以下浓度梯度的标准品：0, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5mg/mL。也可根据实际样本来调整标准品浓度。
- 3 在 EP 管加入：20µL 标准品+130µL 蒸馏水+300µL 试剂二+350µL 试剂三，混匀，取全部上清液于 1mL 玻璃比色皿中，于 415nm 下读取吸光值。
- 4 根据结果制作标准曲线。