

上海茁彩生物科技有限公司
Shanghai zcibio technology Co., Ltd.



生化检测原理示意图

土壤N-乙酰-β-D-葡萄糖苷酶（S-NAG）活性检测试剂盒说明书 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。

产品内容：

种类	试剂规格	储存条件	使用方法及注意事项
试剂一	液体30mL×1瓶	4℃保存	-
试剂二	粉剂×1瓶	-20℃保存	临用前加入2mL丙酮溶解，用不完的试剂仍-20℃保存；
试剂三	液体30mL×1瓶	4℃保存	-
标准品	液体1mL×1支	4℃保存	5 mmol/L的对硝基苯酚溶液，临用前用试剂一将标准品稀释50倍得100 μmol/L 的标准溶液

产品说明：

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。

自备实验用品及仪器：

可见分光光度计/酶标仪、台式离心机、水浴锅、可调式移液器、微量玻璃比色皿/96孔板、研钵、冰、30-50目筛（或更小）和蒸馏水。

操作步骤：

一、样本处理：

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，蒸馏水调零。

(2) 加样表:

试剂名称	测定管	对照管	标准管	空白管
风干土样 (g)	0.03	0.03	-	-
试剂一 (μL)	165	165	-	-
试剂二 (μL)	15	-	-	-
混匀, 37°C水浴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 (μL)	-	15	-	-
12000g 25°C离心10min, 取上清液			-	-
上清液 (μL)	100	100	-	-
标准品 (μL)	-	-	100	-
蒸馏水 (μL)	-	-	-	100
试剂三 (μL)	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=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。				

三、S-NAG 活力计算:

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

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, 100 μmol/L; W: 样本质量。

注意事项:

- 1、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。