

## 土壤 N-乙酰- $\beta$ -D-葡萄糖苷酶

### (Solid-N-acetyl- $\beta$ -D-glucosidase, S-NAG) 试剂盒说明书

微量法 100 管/48 样

正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定

#### 测定意义：

S-NAG 是溶酶体中的一种酸性水解酶，由土壤微生物分泌。S-NAG 活性变化与机体某些病理状态密切相关。

#### 测定原理：

S-NAG 分解 $\beta$ -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。

#### 试剂组成和配制：

产品名称	SSQ031-100T/48S	Storage
试剂一：甲苯	5ml (自备)	4°C
试剂二：粉剂	1 瓶	-20°C
试剂三：液体	20ml	4°C
试剂四：液体	15ml	4°C
说明书	一份	

试剂二：粉剂 $\times$ 1 瓶，-20°C 保存；临用前加入 10ml 蒸馏水，充分溶解备用，用不完的试剂仍-20°C 保存。

#### 自备仪器和用品：

可见分光光度计/酶标仪、台式离心机、水浴锅、可调式移液器、微量石英比色皿/96 孔板、甲苯（不允许快递）和蒸馏水。

#### 样品处理：

新鲜土样自然风干或 37 度烘箱风干，过 30~50 目筛。

#### 测定步骤：

- 1、分光光度计或酶标仪预热 30min 以上，调节波长至 400nm，蒸馏水调零。
- 2、加样表：

最终解释权所有 © 伊势久（江苏连云港）生物科技有限责任公司，保留一切权利



试剂名称	测定管	对照管
风干土样 (g)	0.02	0.02
试剂一 (μl)	10	10
	室温振荡混匀 15min	90°C振荡混匀 15min
试剂二 (μl)	130	
蒸馏水		130
试剂三 (μl)	160	160

混匀，37°C振荡反应 1h 后，90°C水浴 5min（盖紧，防止水分散失），流水冷却，10000g 25°C离心 10min，取上清液（在 EP 管或 96 孔板中加入下列试剂）；

上清液 (μl)	70	70
试剂四 (μl)	130	130

充分混匀，室温静置 2min 后，400nm 处测定吸光值 A，计算  $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}}$ 。每个测定管设一个对照管。

### S-NAG 活力计算：

#### a. 用微量石英比色皿测定的计算公式如下

标准条件下测定的回归方程为  $y = 0.00645x - 0.0054$ ；x 为标准品浓度 (μmol/L)，y 为吸光值。

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 (μmol/d/g 土样) =  $(\Delta A + 0.0054) \div 0.00645 \times V_{\text{反总}} \div W \div T = 55.81 \times (\Delta A + 0.0054)$

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

#### b. 用 96 孔板测定的计算公式如下

标准条件下测定的回归方程为  $y = 0.0043x - 0.0054$ ；x 为标准品浓度 (μmol/L)，y 为吸光值。

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 (μmol/d/g 土样) =  $(\Delta A + 0.0054) \div 0.0043 \times V_{\text{反总}} \div W \div T = 83.72 \times (\Delta A + 0.0054)$

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

