



土壤 N-乙酰- β -D-葡萄糖苷酶 (S-NAG) 活性检测试剂盒
Soil N-Acetyl- β -D-Glucosidase (S-NAG) Activity Assay Kit



北京盒子生工科技有限公司
Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.



土壤 N-乙酰-β-D-葡萄糖苷酶 (S-NAG) 活性检测试剂盒

Soil N-Acetyl-β-D-Glucosidase (S-NAG) Activity Assay Kit

一、产品描述

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, 可水解 N-乙酰-β-氨基葡萄糖苷和 N-乙酰-β-氨基半乳糖苷, 在糖类物质代谢方面具有重要的生理功能。

土壤 N-乙酰-β-D-葡萄糖苷酶能够分解对硝基苯-β-N-乙酰氨基葡萄糖苷生成对硝基苯酚, 产物在 400 nm 处具有特征吸收峰, 通过吸光值变化即可表征土壤 N-乙酰-β-D-葡萄糖苷酶的活性。

二、产品内容

名称	试剂规格	储存条件	使用方法及注意事项
试剂一	液体 80 mL×1 瓶	4°C 保存	-
试剂二	粉剂×2 瓶	-20°C 避光保存	使用前每瓶加入 6 mL 蒸馏水充分溶解 (分装后-20°C 可保存 1 个月, 避免反复冻融)
试剂三	液体 60 mL×1 瓶	4°C 保存	-
标准液	液体 1 mL×1 支	4°C 避光保存	10 mmol/L 对硝基苯酚标准液
标准稀释液的制备 (现用现配): 使用前将 10 mmol/L 对硝基苯酚标准液使用试剂一稀释至 200、150、100、50、25、12.5 μmol/L 即为标准稀释液。			

序号	A	1	2	3	4	5	6
稀释前浓度 (μmol/L)	10000	1000	1000	1000	100	50	25
标准液体积 (μL)	100	200	150	100	500	500	500
试剂一体积 (μL)	900	800	850	900	500	500	500
稀释后浓度 (μmol/L)	1000	200	150	100	50	25	12.5

三、产品使用说明

测定过程中所需要的仪器和试剂: 可见分光光度计、1 mL 玻璃比色皿 (光径 10 mm、狭缝 3 mm、体积 1.05 mL)、可调式移液器、台式离心机、恒温水浴/培养箱、30-50 目筛和蒸馏水。

1. 土壤样本预处理

新鲜土样自然风干或 37°C 烘箱风干，过 30-50 目筛。

2. 测定步骤

① 分光光度计预热 30 min 以上，调节波长至 400 nm，蒸馏水调零。

② 在离心管中依次加入下列试剂（可根据预实验结果适当调整样本量）：

试剂	测定管 (μL)	对照管 (μL)	标准管 (μL)	空白管 (μL)
风干土样 (mg)	100	100	-	-
试剂一	760	760	-	-
试剂二	200	-	-	-
充分混匀，37°C 准确反应 1 h，立即沸水浴处理 5 min (密封以防止水分散失)，冷却至室温				
试剂二	-	200	-	-
充分混匀，10000 g 常温离心 10 min，取上清液				
上清液	400	400	-	-
标准稀释液	-	-	400	-
蒸馏水	-	-	-	400
试剂三	800	800	800	800
充分混匀，室温显色 2 min				

吸光值测定：吸取 1 mL 反应液至 1 mL 玻璃比色皿中，测定 400 nm 处吸光值，记为 A 测定、A 对照、A 标准和 A 空白；计算 $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ ， $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}$ 。注：每个样本均需设一个对照管，各浓度标准管和空白管只需测定 1-2 次。

标准曲线的建立：200、150、100、50、25、12.5 $\mu\text{mol/L}$ 为横坐标 (x)，以其对应的 ΔA 标准为纵坐标 (y) 绘制标准曲线，得到标准方程 $y = kx + b$ ，将 $\Delta A_{\text{测定}}$ 带入公式中得到 x ($\mu\text{mol/L}$)。

3. 土壤 N-乙酰- β -D-葡萄糖苷酶 (S-NAG) 活性计算

单位定义：每天每 g 土样中生成 1 μmol 对-硝基苯酚定义为一个酶活力单位。

$$\text{S-NAG (U/g)} = \frac{x \times V_{\text{反总}}}{W \times T} = \frac{0.0144 \times x}{W}$$

注释： V 反总：反应体系总体积：6 $\times 10^{-4}$ L； T：反应时间，1 h = 1/24 d； W：土壤样本质量，g。

四、注意事项

①若 A 测定或 ΔA 测定超出标准吸光值线性范围：高于最高值建议将上清液使用**试剂一**适当稀释后再进行测定；低于最低值建议适当增加样本量或延长酶促反应时间（37°C反应时间）后再进行测定，计算时相应修改；

②为保证结果准确且避免试剂损失，测定前请仔细阅读说明书（以实际收到说明书内容为准），确认试剂储存和准备是否充分，操作步骤是否清楚，且务必取 2-3 个预期差异较大的样本进行预测定，过程中问题请您及时与工作人员联系。

boxbio

Manufactured and Distributed by

Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.

Liandong U Valley, Tongzhou District, Beijing, China

TEL: 400-805-8228

E-MAIL: techsupport@boxbio.cn

Copyright © 2020 Boxbio, All Rights Reserved.

