



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 30 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 400、300、200、100、50、25 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 | 200 | 100 | 50 |
| 标准液体积 (μL) | 100 | 400 | 300 | 200 | 500 | 500 | 500 |
| 试剂一体积 (μL) | 900 | 600 | 700 | 800 | 500 | 500 | 500 |
| 稀释后浓度 (μmol/L) | 1000 | 400 | 300 | 200 | 100 | 50 | 25 |

三、产品使用说明

测定过程中所需要的仪器和试剂: 酶标仪、96 孔板、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 酶标仪预热 30 min 以上，调节波长至 400 nm。

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 | 测定组 (μL) | 对照组 (μL) | 标准组 (μL) | 空白组 (μL) |
|---|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
| 风干土样 (mg) | 40 | 40 | - | - |
| 试剂一 | 190 | 190 | - | - |
| 试剂二 | 50 | - | - | - |
| 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 | - | 50 | - | - |
| 充分混匀，10000 g 常温离心 10 min，取上清液 | | | | |
| 在 96 孔板中依次加入下列试剂： | | | | |
| 上清液 | 60 | 60 | - | - |
| 标准稀释液 | - | - | 60 | - |
| 蒸馏水 | - | - | - | 60 |
| 试剂三 | 120 | 120 | 120 | 120 |
| 充分混匀，室温显色 2 min | | | | |

吸光值测定：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 ΔA 测定 = A 测定 - A 对照， ΔA 标准 = A 标准 - A 空白。注：每个样品均需设一个对照组，各浓度标准组和空白组只需测定 1-2 次。

标准曲线的建立：400、300、200、100、50、25 $\mu\text{mol/L}$ 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 ΔA 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。

$$\text{S-NAG (U/g)} = \frac{x \times V_{\text{反总}}}{W \times T} = \frac{0.00576 \times x}{W}$$

注释：V 反总：反应体系总体积： $2.4 \times 10^{-4} \text{L}$ ；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.

