



土壤 N-乙酰-β-D-葡萄糖苷酶活性检测试剂盒 NAG Assay Kit

微量法

产品编号: AK439M
产品规格: 100T/48S
产品组成及保存条件:

编号	规格	储存条件
AK439-A	甲苯 5mL	4°C保存; (自备)
AK439-B	粉剂×1 瓶	-20°C保存; 临用前加入 10mL 蒸馏水, 充分溶解备用; 剩余试剂-20°C保存;
AK439-C	20mL×1 瓶	4°C保存;
AK439-D	15mL×1 瓶	4°C保存;
AK439-标准品	1mL×1 支	4°C保存

※ 正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定。

简介:

意义: 土壤 N-乙酰-β-D-葡萄糖苷酶 (Solid-N-acetyl-β-D-glucosidase, 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 活性变化与某些土壤微生物生理状态密切相关。

原理: 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。

粗酶液提取:

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. 酶标仪或分光光度计预热 30min 以上, 调节波长至 400nm, 蒸馏水调零。
2. 将 5mmol/L 的标准液用蒸馏水稀释为 250、200、150、100、50、20、10μmol/L 的标准溶液。
3. 加样表:

试剂名称	测定管 (μL)	对照管 (μL)	标准管 (μL)	空白管 (μL)
风干土样 (g)	0.02g	0.02g		
AK439-A	10	10		
	室温振荡混匀 15min	90°C振荡混匀 15min		
蒸馏水		130		
AK439-B	130			
AK439-C	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	70	70		
标准溶液			70	

蒸馏水				70
AK439-D (μL)	130	130	130	130
充分混匀，室温静置 2min 后，400nm 处测定吸光值 A，分别记为 A 对照管，A 测定管，A 标准管，A 空白管。计算 $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}}$ ， $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准管}} - A_{\text{空白管}}$ 。每个测定管需设一个对照管（标准曲线只需检测 1-2 次）。每个测定管需要设一个对照管。				

S-NAG 活性计算：

1. 标准曲线的绘制：

以标准液的浓度 ($\mu\text{mol/L}$) 为 x 轴，对应的 ΔA 标准为 y 轴，绘制标准曲线，得到标准方程 $y=kx+b$ ，将 ΔA 代入方程得到 x_1 ($\mu\text{mol/L}$)， ΔA 总代入方程得到 x_2 ($\mu\text{mol/L}$)。

2. 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 ($\mu\text{mol/d/g}$ 土样) = $x \times V_{\text{反应}} \div W \div T = 0.36x$

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

※ 蛋白定量检测建议使用本公司：BCA Protein Assay Kit ([C05-02001](#))