

土壤 N-乙酰- β -D-葡萄糖苷酶(Solid-N-acetyl- β -D-glucosidase, S-NAG) 试剂盒说明书

微量法 100 管/48 样

注 意：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 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。

试剂组成和配制：

试剂一：甲苯 5mL×1 瓶，4℃ 保存；（自备）

试剂二：粉剂×1 瓶，-20℃ 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℃ 保存；

试剂三：液体 20mL×1 瓶，4℃ 保存；

试剂四：液体 15mL×1 瓶，4℃ 保存；

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

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℃振荡混匀 15min
试剂二 (μL)	130	
蒸馏水		130
试剂三 (μL)	160	160

混匀， 37℃振荡反应 1h 后， 90℃水浴 5min（盖紧，防止水分散失），流水冷却，
10000g 25℃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。

$$\text{S-NAG 活力 (}\mu\text{mol/d/g 土样)} = (\Delta A + 0.0054) \div 0.00645 \times V_{\text{反应}} \div W \div T = 55.81 \times (\Delta A + 0.0054)$$

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。

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。

$$\text{S-NAG 活力 (}\mu\text{mol/d/g 土样)} = (\Delta A + 0.0054) \div 0.0043 \times V_{\text{反应}} \div W \div T = 83.72 \times (\Delta A + 0.0054)$$

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。