

## Soil N-Acetyl-β-D-Glucosaminidase Activity Assay Kit

### 土壤 N-乙酰-β-D-氨基葡萄糖苷酶(S-NAG)活性检测试剂盒 微板法

| 产品编号    | 产品名称                                  | 规格  |
|---------|---------------------------------------|-----|
| BL1775B | 土壤 N-乙酰-β-D-氨基葡萄糖苷酶(S-NAG)活性检测试剂盒 微板法 | 96T |

#### 产品简介:

土壤 N-乙酰-β-D-氨基葡萄糖苷酶 (NAG, EC 3.2.1.52) 是溶酶体中的一种酸性水解酶, 由土壤微生物分泌, 该酶的活性变化与机体某些病理状态密切相关。

土壤 N-乙酰-β-D-氨基葡萄糖苷酶 (S-NAG) 分解 4-硝基酚-β-N-乙酰氨基葡萄糖生成对-硝基苯酚 (PNP), 在 405nm 处检测该产物的升高速率, 来计算 S-NAG 活力大小。

#### 产品组成:

| 试剂名称 | 规格       | 保存要求    | 备注  |
|------|----------|---------|---|
| 试剂一  | 粉末×2 支   | -20°C保存 | 临用前甩几下使粉体落入底部, 每瓶再加入 7.6mL 蒸馏水, 充分溶解备用, 用不完的试剂仍-20°C保存; |
| 试剂二  | 80mL×1 瓶 | 4°C保存   |   |
| 试剂三  | 80mL×1 瓶 | 4°C保存   |   |
| 标准品  | 粉末×1 支   | 4°C保存   | 若重新做标曲, 则用到该试剂  |

#### 使用方法:

建议正式实验前选取 2 个样本做预测定, 了解本批样品情况, 熟悉实验流程, 避免实验样本和试剂浪费!

##### 一、样本准备

取新鲜土样或干土 (风干或者 37 度烘箱风干), 先粗研磨, 过 40 目筛网备用。

【注】: 土壤风干, 减少土壤中水分对于实验的干扰; 土壤过筛, 保证取样的均匀细腻。

##### 二、样品测定

1. 酶标仪预热 30min 以上, 调节波长至 405nm。
2. 在离心管中加入:

| 试剂名称 (μL)  | 测定管  | 对照管  | 空白管 (仅做一次) |
|--|------|------|------------|
| 土样 (g)   | 0.05 | 0.05 | -          |
| 试剂一  | 150  | -    | 150        |
| 蒸馏水  | -    | 150  | -          |
| 试剂二  | 300  | 300  | 300        |
| 混匀, 37°C (水浴锅或恒温培养箱) 振荡反应 1h   |      |      |            |
| 试剂三  | 350  | 350  | 350        |
| 混匀, 12000rpm, 离心 10min, 取上清液 200μL 于 96 孔板中, 于 405nm 下读取吸光值 A, ΔA=A 测定-A 对照-A 空白 (每个测定管需设一个对照管)。 |      |      |            |

【注】 1.若ΔA 在零附近徘徊, 可延长 37°C的孵育时间 T (如增至 4 小时或更长), 或增加土样质量 W (如

Note: For in vitro research use only, not for diagnostic or therapeutic use, This product is not a medical device.  
 注意: 在体外研究使用, 不用于诊断或治疗用途, 本产品不是医疗装置。

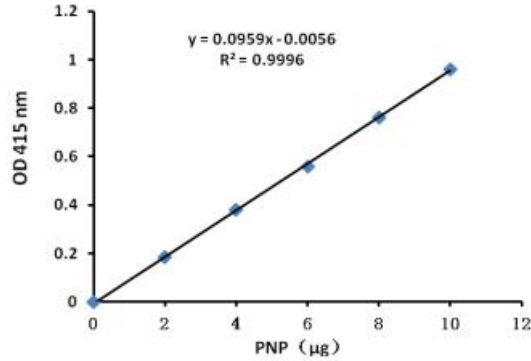


增至 0.2g)。则改变后的 T 和 W 需代入计算公式重新计算。

2.若测定管 A 值大于 1.5 或  $\Delta A$  大于 1.5, 可缩短 37°C 的孵育时间 T (如减至 0.5 小时或更短)。则改变后 T 需代入计算公式重新计算。或对最后一步的待检测上清液 (包括测定管、对照管和空白管) 同时用蒸馏水进行稀释, 稀释倍数 D 代入计算公式。

### 三、结果计算

1. 标准曲线:  $y = 0.0959x - 0.0056$ ; x 为标准品质量 ( $\mu\text{g}$ ), y 为吸光值  $\Delta A$ 。



2. 单位定义: 每小时每克土样中产生 1nmol 对-硝基苯酚 (PNP) 定义为一个酶活单位。

$$\begin{aligned} \text{S-NAG 活力}(\text{nmol/h/g 土样}) &= (\Delta A + 0.0056) \div 0.0959 \div \text{Mr} \times 10^3 \div \text{W} \div \text{T} \times \text{D} \\ &= 75 \times (\Delta A + 0.0056) \div \text{W} \times \text{D} \end{aligned}$$

T---反应时间, 1h

W---实际称取土样质量, g

Mr--- PNP 相对分子质量, 139.11

D---稀释倍数, 未稀释即为 1

#### 附: 标准曲线制作过程:

1. 制备标准品母液 (1mg/mL): 向标准品离心管里面加入 1mL 蒸馏水。
2. 把母液稀释成以下浓度梯度的标准品: 0, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5mg/mL。也可根据实际样本来调整标准品浓度。
3. 在离心管中依次加入: 20 $\mu\text{L}$  标准品+130 $\mu\text{L}$  蒸馏水+300 $\mu\text{L}$  试剂二+350 $\mu\text{L}$  试剂三, 混匀, 取 200 $\mu\text{L}$  至 96 孔板中, 于 405nm 下读取吸光值。
4. 根据结果制作标准曲线。

#### 注意事项:

1. 本产品仅限于专业人员的科学研究用, 不得用于临床诊断或治疗, 不得用于食品或药品。
2. 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。

#### 有效期:

-20°C 保存六个月。

