

N-乙酰葡萄糖苷酶(NAG)活性检测试剂盒说明书

产品货号	产品名称	包装规格	测定方法
PMHF5-C24	N-乙酰葡萄糖苷酶 (NAG)活性检测试剂盒	24T	常量法
PMHF5-C48		48T	

一、测定意义：

N-乙酰葡萄糖苷酶可以作为评估植物细胞壁代谢活性及抗病能力，通过监测该酶活性可反映植物在病原侵染或环境胁迫下的防御响应，为病害预警、抗性育种及植物健康管理提供重要依据。

二、测定原理：

以对硝基苯基-N-乙酰-β-D-氨基葡萄糖苷为底物，水解生成对硝基酚，产物显黄色，在 400nm 有特征吸收峰。

三、试剂组成：

试剂名称	试剂装量(24T)	试剂装量(48T)	保存条件
提取液	液体 30mL×1 瓶	液体 60mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂一	液体 30mL×1 瓶	液体 60mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂二	粉剂 ×1 瓶	粉剂 ×2 瓶	-20℃保存
试剂二的配制：用时每瓶粉剂加入试剂一 6mL，混匀充分溶解，-20℃分装保存 1 个月。			
试剂三	液体 30mL×1 瓶	液体 60mL×1 瓶	2-8℃保存
标准品 (1mg/mL)	液体 1mL×1 支	液体 1mL×1 支	2-8℃保存

四、操作步骤：

样本前处理

取一定量植物组织擦净水分及杂质，剪碎后放入研钵，加入液氮，研磨成粉状后转移出来，然后准确称重，按照组织质量（g）：提取液体积(mL)为 1：5~10 的比例（建议称取约 0.1g 组织，加入 1mL 提取液），旋涡混匀抽提 3-5 分钟或者使用组织破碎仪冰浴提取，8000g，4℃离心 10min，取上清，置冰上待测。

测定步骤

- 1、分光光度计预热 30min 以上，调节波长至 400nm，蒸馏水调零。
- 2、测定前将试剂恢复至常温；
- 3、将 1mg/mL 标准品用蒸馏水依次稀释至 0、3.125、6.25、12.5、25、50、100μg/mL 标准液备用；
- 4、操作表（在离心管中加入以下试剂）：

试剂名称	测定管	对照管	空白管	标准管
样品（μL）	50	50	-	-
蒸馏水（μL）	-	-	50	-
标准品（μL）	-	-	-	50
试剂一（μL）	400	400	400	400
试剂二（μL）	100	-	100	100
混匀，37℃孵育 30min。				
试剂三（μL）	500	500	500	500
试剂二（μL）	-	100	-	-
混匀，静置 3min，空白管调零，于波长 400nm 测定各管吸光度，分别记为 A _{测定} ，A _{对照} ，A _{标准} ，A _{空白} ，计算ΔA _{测定} =A _{测定} -A _{对照} ， ΔA _{标准} =A _{标准} -A _{空白} 。				

五、N-乙酰葡萄糖苷酶(NAG)活性计算：

- 1、标准曲线绘制：以吸光度值为横坐标，标准品浓度为纵坐标，绘制标准曲线 $y=kx+b$ ，x 为吸光度值，y 为标准品浓度（μg/mL）。根据标准曲线，将 ΔA_{测定} 带入公式计算出样本浓度（y，μg/mL）；
- 2、按样本质量计算：

单位定义：每克组织每小时催化产生 1μg 对硝基酚的量为一个活力单位。

计算公式：
$$\text{NAG (U/g)} = y \times V_{\text{样}} \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 2 \times y \div W$$

- 3、按蛋白浓度计算：

单位定义：每毫克蛋白每小时催化产生 1μg 对硝基酚的量为一个活力单位。

计算公式: $\text{NAG}(\text{U/mg prot}) = y \times V_{\text{样}} \div (V_{\text{样}} \times \text{Cpr}) \div T = 2 \times y \div \text{Cpr}$

$V_{\text{样}}$: 加入样本体积, 0.05mL; $V_{\text{样总}}$: 加入提取液体积, 1 mL; T:

反应时间, 30 min=0.5h; Cpr: 样本蛋白质浓度, mg/mL; W: 样本质量 0.1g。

六、注意事项:

- 1、比色时, 溶液呈现淡黄色, 在 2h 内保持稳定。
- 2、不同植物样本的 N-乙酰葡萄糖苷酶差异较大, 根据样本活性可以适当增加或者减少称取样本重量, 也可增加反应时间。
- 3、实验之前建议选择 2-3 个预期差异大的样本做预实验。如果样本吸光值不在测量范围内建议稀释或者增加样本量进行检测。

【厂家信息】

生产企业: 南京陌凡生物科技有限公司

地址: 南京市栖霞区红枫科技园 A6 栋 2 层

【售后微信】



【说明书核准及修改日期】

核准日期: 2025 年 4 月 7 日

修改日期: 2025 年 4 月 7 日