



N-乙酰-β-D-葡萄糖苷酶活性检测试剂盒

NAG Assay Kit

可见分光光度法

产品编号: AK397V

产品规格: 50T/24S

产品组成及保存条件:

编号	规格	储存条件
ES397	50mL×1 瓶	4℃保存;
AK397-A	粉剂×1 瓶	-20℃保存; 临用前加入 5mL 蒸馏水, 充分溶解备用; 剩余试剂-20℃保存;
AK397-B	15mL×1 瓶	4℃保存;
AK397-C	50mL×1 瓶	4℃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: N-乙酰葡萄糖苷酶 (N-acetyl-β-D-glucosidase, NAG) 是一种细胞内溶酶体酶, 存在于肾、肝、脾及脑等脏器, 以肾近曲小管含量最高。NAG 相对分子质量较大, 不能由肾小球滤过, 在肾脏受损时由细胞内释放至肾小管中, 尿中 NAG 明显升高, 尿 NAG 活性对于肾小管病变是一个很灵敏且特异性较强的指标之一, 可作为肾小管受损的早期诊断指标, 甚至比尿白蛋白有更早的预测价值。

原理: 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、台式离心机、水浴锅、可调式移液器、1mL 玻璃比色皿、研钵、冰和蒸馏水。

粗酶液提取:

1. 细菌或培养细胞: 先收集细菌或细胞到离心管内, 离心后弃上清; 按照细菌或细胞数量 (10^4 个): ES397 体积 (mL) 为 500~1000: 1 的比例 (建议 500 万细菌或细胞加入 1mL ES397), 超声波破碎细菌或细胞 (冰浴, 功率 20% 或 200W, 超声 3s, 间隔 10s, 重复 30 次); 15000g 4℃离心 10min, 取上清, 置冰上待测。
2. 组织: 按照组织质量 (g): ES397 体积 (mL) 为 1: 5~10 的比例 (建议称取约 0.1g 组织, 加入 1mL ES397), 进行冰浴匀浆。15000g 4℃离心 10min, 取上清, 置冰上待测。
3. 血清 (浆) 样品: 直接检测。

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. 样本测定 (在 EP 管中依次加入下列试剂):

试剂名称	测定管 (μL)	对照管 (μL)
AK397-A	200	
蒸馏水		200
AK397-B	250	250
样本	50	50
迅速混匀, 放入 37℃ 保温 30min		
AK397-C	1000	1000
充分混匀, 400nm 处测定吸光值 A, 计算 $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ 。每个测定管需设一个对照管。		

NAG 活性计算:

标准条件下测定的回归方程为 $y = 0.00543x + 0.0083$; x 为标准品浓度 (nmol/mL), y 为吸光值。

1. 血清 (浆) NAG 活力的计算

单位的定义: 每 mL 血清 (浆) 每分钟产生 1nmol 对-硝基苯酚定义为一个酶活性单位。

$$\text{NAG 活力 (nmol/min/mL)} = [(\Delta A - 0.0083) \div 0.00543 \times V_{\text{反总}}] \div V_{\text{样}} \div T = 61.39 \times (\Delta A - 0.0083)$$

2. 细胞、细菌和组织中 NAG 活力的计算:

(1) 按样本蛋白浓度计算:

单位的定义: 每 mg 组织蛋白每分钟产生 1nmol 对-硝基苯酚定义为一个酶活性单位。

$$\text{NAG 活性 (nmol/min/mg prot)} = [(\Delta A - 0.0083) \div 0.00543 \times V_{\text{反总}}] \div (V_{\text{样}} \times C_{\text{pr}}) \div T = 61.39 \times (\Delta A - 0.0083) \div C_{\text{pr}}$$

(2) 按样本鲜重计算:

单位的定义: 每 g 组织每分钟产生 1nmol 对-硝基苯酚定义为一个酶活性单位。

$$\begin{aligned} \text{NAG 活性 (nmol/min/g 鲜重)} &= [(\Delta A - 0.0083) \div 0.00543 \times V_{\text{反总}}] \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T \\ &= 61.39 \times (\Delta A - 0.0083) \div W \end{aligned}$$

(3) 按细菌或细胞密度计算:

单位的定义: 每 1 万个细菌或细胞每分钟产生 1nmol 对-硝基苯酚定义为一个酶活性单位。

$$\text{NAG 活性 (nmol/min/104cell)} = [(\Delta A - 0.0083) \div 0.00543 \times V_{\text{反总}}] \div (500 \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 0.123 \times (\Delta A - 0.0083)$$

注: $V_{\text{反总}}$: 反应体系总体积, 0.5mL; $V_{\text{样}}$: 加入反应体系中样本体积, 0.05mL; $V_{\text{样总}}$: 加入 ES397 体积, 1mL; C_{pr} : 样本蛋白质浓度, mg/mL; W : 样本质量, g; 500: 细胞或细菌总数, 500 万; T : 反应时间, 30min。

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