



N-乙酰-β-D-葡萄糖苷酶活性检测试剂盒

NAG Assay Kit

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℃分装保存 4 周, 避免反复冻融
AK397-B	15mL×1 瓶	4℃保存
AK397-C	80mL×1 瓶	4℃保存
AK397-标准品 (5 μmol/mL)	1mL×1 支	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. 标准液的处理: 用蒸馏水将标准液稀释至 200、100、50、25、12.5、6.25、0nmol/mL。
3. 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)	标准管 (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			
标准品			500
AK397-C	1000	1000	1000
充分混匀，室温静置 2min 后，于 400nm 处测定吸光值 A，分别记为 A 测定管、A 对照管、A 标准管、A 空白管。计算 $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}}$ ， $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准管}} - A_{\text{空白管}}$ 。 注：每个测定管需设一个对照管，标准曲线和空白管只需测 1-2 次。			

NAG 活性计算：

1. 标准曲线的建立：

根据标准管的吸光度（y）和浓度（x,nmol/mL）建立标准曲线，将 ΔA （y）带入标准曲线中，计算样本生成的产物量 x（nmol/mL）。

2. α -GAL 活性计算

（1）按样本蛋白浓度计算：

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

$$\text{NAG 活性(U/mg prot)} = [x \times V_{\text{反总}}] \div (V_{\text{样}} \times \text{Cpr}) \div T = 20x \div \text{Cpr}$$

（2）按样本鲜重计算：

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

$$\text{NAG 活性(U/g 鲜重)} = [x \times V_{\text{反总}}] \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 20x \div W$$

（3）按细菌或细胞密度计算：

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

$$\text{NAG 活性(U/10}^4\text{cell)} = [x \times V_{\text{反总}}] \div (500 \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 0.04x$$

（4）按血清（浆）体积计算

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。

$$\text{NAG 活性 (U/mL)} = [x \times V_{\text{反总}}] \div V_{\text{样}} \div T = 20x$$

注： Cpr: 样本蛋白质浓度, mg/mL; V 反总: 反应体系总体积, 0.5mL; V 样: 加入反应体系中样本体积, 0.05mL; V 样总: 加入 ES397 体积, 1mL; W: 样本质量, g; 500: 细胞或细菌总数, 500 万; T: 反应时间, 0.5h。

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