



N-乙酰-β-D-葡萄糖苷酶活性检测试剂盒 NAG Assay Kit

微量法

产品编号：AK397M

产品规格：100T/48S

产品组成及保存条件：

编号	规格	储存条件
ES397	100mL×1 瓶	4℃保存
AK397-A	粉剂×1 瓶	-20℃保存；临用前加入 2.5mL 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	4mL×1 瓶	4℃保存
AK397-C	15mL×1 瓶	4℃保存
AK397-标准品 (5 μ mol/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：

酶标仪/可见分光光度计、台式离心机、水浴锅、可调式移液器、96 孔板/微量玻璃比色皿、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(10⁴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. 酶标仪或分光光度计预热 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 管或 96 孔板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	25		
蒸馏水		25	
AK397-B	35	35	
样本	10	10	

迅速混匀，放入 37℃保温 30min			
标准品			70
AK397-C	130	130	130
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 $\Delta A_{测定} = A_{测定管} - A_{对照管}$ ， $\Delta A_{标准} = A_{标准管} - A_{空白管}$ 。 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。

$$\text{NAG 活性(U/mg prot)} = (x \times V_{\text{反总}}) \div (V_{\text{样}} \times \text{Cpr}) \div T = 14x \div \text{Cpr}$$

(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。

$$\text{NAG 活性(U/g 鲜重)} = (x \times V_{\text{反总}}) \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 14x \div W$$

(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。

$$\text{NAG 活性(U}/10^4\text{cell)} = (x \times V_{\text{反总}}) \div (500 \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 0.028x$$

(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。

$$\text{NAG 活性 (U/mL)} = (x \times V_{\text{反总}}) \div V_{\text{样}} \div T = 14x$$

注： Cpr: 样本蛋白质浓度，mg/mL；V 反总: 反应体系总体积，0.07mL；V 样: 加入反应体系中样本体积，0.01mL；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](#))