



N-乙酰基-β-D-葡萄糖苷酶 (NAG) 活性检测试剂盒
N-Acetyl-β-D-Glucosidase (NAG) Activity Assay Kit



北京盒子生工科技有限公司
Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.



N-乙酰基-β-D-葡萄糖苷酶 (NAG) 活性检测试剂盒

N-Acetyl-β-D-Glucosidase (NAG) Activity Assay Kit

一、产品描述

N-乙酰-β-D-葡萄糖苷酶 (NAG) 是一种广泛分布于组织中的细胞内容体酶, N-乙酰-β-D-葡萄糖苷酶活性的测定对于肾小管间质性肾炎、尿路感染、糖尿病肾病综合症、高血压肾病、肾移植后的排异反应和肾病综合症等疾病的早期诊断具有重要意义。

N-乙酰-β-D-葡萄糖苷酶能够分解 N-β-乙酰氨基葡萄糖苷生成对-硝基苯酚, 产物在 400 nm 处具有特征吸收峰, 通过测定 400 nm 处吸光值变化即可表征 N-乙酰-β-D-葡萄糖苷酶的活性。

二、产品内容

名称	试剂规格	储存条件	使用方法及注意事项
提取液	液体 60 mL×1 瓶	4°C 保存	-
试剂一	液体 10 mL×1 瓶	4°C 保存	-
试剂二	粉剂×1 瓶	-20°C 保存	使用前加入 2.5 mL 蒸馏水充分溶解 (分装后-20°C可保存 2 周, 避免反复冻融)
试剂三	液体 20 mL×1 瓶	4°C 保存	-
标准液	液体 1 mL×1 支	4°C 保存	5 μmol/mL 对硝基苯酚标准液
标准应用液的制备: 将 5 μmol/mL 对硝基苯酚标准液使用蒸馏水稀释 8 倍至 0.625 μmol/mL。			

三、产品使用说明

测定过程中所需要的仪器和试剂: 可见分光光度计/酶标仪、微量玻璃比色皿 (光径 10 mm) /96 孔板、研钵/匀浆器、可调式移液器、台式离心机、恒温水浴/培养箱和蒸馏水。

1. 粗酶液的制备 (可根据预实验结果适当调整样本量及比例)

①组织: 按照组织质量 (g): 提取液体积 (mL) 为 1: (5-10) 的比例 (建议称取 0.1 g 组织, 加入 1 mL 提取液) 处理样品, 冰浴匀浆, 4°C 15000 g 离心 10 min, 取上清置于冰上待测。

②细菌或细胞: 离心收集细菌或细胞至离心管内, 按照细菌或细胞数量 (10⁴ 个): 提取液体积 (mL) 为 (500-1000): 1 的比例 (建议 500 万细菌或细胞加入 1 mL 提取液) 处理样品, 冰浴超声破碎 (功率 300 W, 超声 3 s, 间隔 7 s, 总时间 3 min), 4°C 15000 g 离心 10 min, 取上清置于冰上待测。

③血清 (浆)、培养液等液体样本: 直接检测或适当稀释后再进行检测。

2. 测定步骤

①分光光度计或酶标仪预热 30 min 以上，调节波长至 400 nm，蒸馏水调零。

②在离心管中依次加入下列试剂：

试剂	测定管 (μL)	对照管 (μL)	标准管 (μL)	空白管 (μL)
试剂一	60	60	60	60
试剂二	30	-	-	-
粗酶液	10	10	-	-
标准应用液	-	-	10	-
蒸馏水	-	30	30	40
充分混匀，37°C准确反应 30 min				
试剂三	200	200	200	200
充分混匀，室温静置 2 min				

吸光值测定：吸取 200 μL 反应液至 96 孔板或微量玻璃比色皿中，测定 400 nm 处吸光值，记为 A 测定、A 对照、A 标准和 A 空白，计算 ΔA 测定=A 测定-A 对照， ΔA 标准=A 标准-A 空白。注：空白管只需测定 1-2 次，每个样品均需设一个对照管。

3. N-乙酰基- β -D-葡萄糖苷酶 (NAG) 活性计算

①按组织样本蛋白浓度计算

单位定义：每 mg 组织蛋白每分钟生成 1 nmol 对硝基苯酚定义为一个酶活力单位。

$$\text{NAG (U/mg prot)} = \frac{C_{\text{标}} \times \Delta A_{\text{测定}} \times V_{\text{样}} \times 1000}{\Delta A_{\text{标准}} \times C_{\text{pr}} \times V_{\text{样}} \times T} = \frac{20.83 \times \Delta A_{\text{测定}}}{C_{\text{pr}} \times \Delta A_{\text{标准}}}$$

②按组织样本质量计算

单位定义：每 g 组织样本每分钟生成 1 nmol 对硝基苯酚定义为一个酶活力单位。

$$\text{NAG (U/g)} = \frac{C_{\text{标}} \times \Delta A_{\text{测定}} \times V_{\text{样}} \times V_{\text{样总}} \times 1000}{\Delta A_{\text{标准}} \times W \times V_{\text{样}} \times T} = \frac{20.83 \times \Delta A_{\text{测定}}}{W \times \Delta A_{\text{标准}}}$$

③按细菌或细胞数量计算

单位定义：每 10^4 个细菌或细胞每分钟生成 1 nmol 对硝基苯酚定义为一个酶活力单位。

$$\text{NAG (U/10}^4 \text{ cell)} = \frac{C_{\text{标}} \times \Delta A_{\text{测定}} \times V_{\text{样}} \times V_{\text{样总}} \times 1000}{\Delta A_{\text{标准}} \times \text{细菌或细胞数量} \times V_{\text{样}} \times T} = \frac{20.83 \times \Delta A_{\text{测定}}}{\text{细菌或细胞数量} \times \Delta A_{\text{标准}}}$$

④按液体样本体积计算

单位定义：每 mL 液体样本每分钟催化生成 1 nmol 对硝基苯酚定义为一个酶活力单位。

$$\text{NAG (U/mL)} = \frac{C \text{ 标} \times \Delta A \text{ 测定} \times V \text{ 样} \times 1000}{\Delta A \text{ 标准} \times V \text{ 样} \times T} = \frac{20.83 \times \Delta A \text{ 测定}}{\Delta A \text{ 标准}}$$

注释：C 标：标准应用液浓度：0.625 $\mu\text{mol/mL}$ ；V 样：反应体系中加入粗酶液的体积，0.01 mL；

V 样总：粗酶液总体积，1 mL；Cpr：样本蛋白浓度，mg/mL；W：样本质量，g；细菌或细胞数量：以万计；T：反应时间，30 min；1000：换算系数，1 $\mu\text{mol}=1000 \text{ nmol}$ 。

四、注意事项

①若测定吸光值大于 1.2，建议将粗酶液使用提取液适当稀释后再进行测定，计算时相应修改；

②为保证结果准确且避免试剂损失，测定前请仔细阅读说明书（以实际收到说明书内容为准），确认试剂储存和准备是否充分，操作步骤是否清楚，且务必取 2-3 个预期差异较大的样本进行预测定，过程中问题请您及时与工作人员联系。

For Research Use Only. Not for Use in Diagnostic Procedures.

boxbio

Manufactured and Distributed by

Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.
Liandong U Valley, Tongzhou District, Beijing, China

TEL: 400-805-8228

E-MAIL: techsupport@boxbio.cn

Copyright © 2020 Boxbio, All Rights Reserved.

