



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℃保存
AK397-B	4mL×1 瓶	4℃保存
AK397-C	13mL×1 瓶	4℃保存
AK397-标准品	1mL×1 支	临用前将标准品稀释 8 倍得 0.625umol/L 得标准溶液； 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/微量石英比色皿、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. 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. 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）	空白管（μL）
AK397-A	25			
蒸馏水		25	25	35
AK397-B	35	35	35	35
样本	10	10		
标准溶液			10	

迅速混匀，放入 37℃保温 30min				
AK397-C	130	130	130	130
充分混匀，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 ΔA 测定 = A 测定管 - A 对照管， ΔA 标准 = A 标准管 - A 空白管。每个测定管设一个对照管。空白管和标准管只需做 1-2 次。				

NAG 活性计算：

1. 按蛋白浓度计算

活力单位定义：每 mg 蛋白在反应体系中每分钟生成 1nmol 对硝基苯酚定义为一个酶活力单位。

$$\text{NAG (U/mg prot)} = \Delta A \text{ 测定} \div (\Delta A \text{ 标准} \div C \text{ 标}) \times 1000 \times V \text{ 样} \div (C_{\text{pr}} \times V \text{ 样}) \div T = 20.83 \times \Delta A \text{ 测定} \div \Delta A \text{ 标准} \div C_{\text{pr}}$$

2. 按样本质量计算

活力单位定义：每 g 样本在反应体系中每分钟生成 1nmol 对硝基苯酚定义为一个酶活力单位。

$$\text{NAG (U/g 质量)} = \Delta A \text{ 测定} \div (\Delta A \text{ 标准} \div C \text{ 标}) \times 1000 \times V \text{ 样} \div (V \text{ 样} \div V \text{ 样总} \times W) \div T = 20.83 \times \Delta A \text{ 测定} \div \Delta A \text{ 标准} \div W$$

3. 按细胞数量计算

活力单位定义：每 104 个细胞在反应体系中每分钟生成 1nmol 对硝基苯酚定义为一个酶活力单位。

$$\text{NAG (U/104 cell)} = \Delta A \text{ 测定} \div (\Delta A \text{ 标准} \div C \text{ 标}) \times 1000 \times V \text{ 样} \div (\text{细胞数量} \times V \text{ 样} \div V \text{ 样总}) \div T = 20.83 \times \Delta A \text{ 测定} \div \Delta A \text{ 标准} \div \text{细胞数量}$$

4. 按液体体积计算

活力单位定义：每毫升液体在反应体系中每分钟催化生成 1nmol 对硝基苯酚为一个酶活力单位。

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

C 标：标准溶液的浓度：0.625μmol/mL；V 样总：提取液体积，1mL；V 样：加入的样本体积，0.01mL；C_{pr}：上清液蛋白浓度，mg/mL；T：反应时间，30min；细胞数量：以万计；W：样本质量，g；1000：换算系数，1μmol=1000nmol。

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