



上海源叶生物科技有限公司
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd
电话: 021-61312973 传真: 021-55068248
网址: www.shyuanye.com
邮箱: shyysw@sina.com

N-乙酰-β-D-葡萄糖苷酶活性检测试剂盒(微量法)

货号: R42044

规格: 100T/48S

有效期: 6个月

产品组成及保存条件:

编号	规格	储存条件
ES397	100mL×1瓶	4℃保存
试剂-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
试剂-B	4mL×1瓶	4℃保存
试剂-C	13mL×1瓶	4℃保存
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)
试剂-A	25			
蒸馏水		25	25	35
试剂-B	35	35	35	35
样本	10	10		
标准溶液			10	
迅速混匀, 放入37℃保温30min				
试剂-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 $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}}$, $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准管}} - A_{\text{空白管}}$ 。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。 $NAG (U/mg \text{ prot}) = \Delta A_{\text{测定}} \div (\Delta A_{\text{标准}} \div C_{\text{标}}) \times 1000 \times V_{\text{样}} \div (C_{\text{pr}} \times V_{\text{样}}) \div T = 20.83 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div C_{\text{pr}}$

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。

$$\text{NAG (U/g 质量)} = \Delta A \text{ 测定} \div (\Delta A \text{ 标准} \div C \text{ 标}) \times 1000 \times V \text{ 样} \div (V \text{ 样} \div V \text{ 样总} \times W) \div T = 20.83 \times \Delta A \text{ 测定} \div \Delta A \text{ 标准} \div W \times 3$$
按细胞数量计算

活力单位定义: 每 10^4 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。

$$\text{NAG (U/} 10^4 \text{ cell)} = \Delta A \text{ 测定} \div (\Delta A \text{ 标准} \div C \text{ 标}) \times 1000 \times V \text{ 样} \div (\text{细胞数量} \times V \text{ 样} \div V \text{ 样总}) \div T = 20.83 \times \Delta A \text{ 测定} \div \Delta A \text{ 标准} \div \text{细胞数量}$$

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: $0.625 \mu\text{mol/mL}$; V 样总: 提取液体积, 1mL; V 样: 加入的样本体积, 0.01mL; Cpr: 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, $1 \mu\text{mol} = 1000 \text{nmol}$ 。

※ 蛋白定量检测建议使用本公司: BCA Protein Assay Kit。