

# N-乙酰基-β-葡萄糖苷酶 (NAG) 活性检测试剂盒 (可见分光光度法)

产品货号: BA1934

产品规格: 50T/24S

## 产品简介:

N-乙酰-β-D-葡萄糖苷酶 (EC 3.2.1.52, N-acetyl-β-D-glucosidase, NAG) 广泛分布于各种组织中, 是一种细胞内溶体酶, 测定NAG活性可用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的早期诊断。

NAG分解N-β-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400nm下吸光度的变化来计算NAG活性。



注意: 实验之前建议选择2-3个预期差异大的样本做预实验。如果样本吸光值不在测量范围内建议稀释或者增加样本量进行检测。

## 产品组成:

试剂名称	规格	保存条件
提取液	液体30mL×1瓶	2-8℃
试剂一	液体20mL×1瓶	2-8℃
试剂二	粉剂×2瓶	-20℃
试剂三	液体60mL×1瓶	2-8℃
标准品	液体1mL×1支	2-8℃

溶液的配制:

1. 试剂二: 临用前取一瓶加入2.5mL蒸馏水溶解备用; 可-20℃分装保存4周, 避免反复冻融;
2. 标准品: 5μmol/mL的对硝基苯酚溶液。

## 需自备的仪器和用品:

可见分光光度计、天平、台式离心机、水浴锅/恒温培养箱、超声破碎仪、1mL玻璃比色皿、可调式移液枪、研钵/匀浆器、EP管、冰和蒸馏水。

## 操作步骤:

### 一、样本处理 (可适当调整待测样本量, 具体比例可以参考文献)

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0.1g组织, 加入1mL提取液), 冰浴匀浆。15000g, 4℃离心10min, 取上清, 置冰上待测。
2. 细菌、细胞: 先收集细胞或细菌样本到离心管内, 离心弃上清后, 按照细胞数量10<sup>4</sup>个: 提取液体积 (mL) 500~1000:1的比例, 建议500万细胞加入1mL提取液), 超声波破碎细胞 (冰浴, 功率200w, 超声3s, 间隔7s, 总时间3min), 然后15000g, 4℃, 离心10min, 取上清, 置冰上待测。
3. 血清 (浆) 等液体: 直接测定。

### 二、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。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址: 郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话: 400-611-0007 13671551480 13643719799

QQ: 807961520 731791866

邮箱: zzlybio@126.com

- 标准溶液的稀释: 取125  $\mu\text{L}$  5  $\mu\text{mol/mL}$ 对硝基苯酚溶液, 加入875  $\mu\text{L}$ 蒸馏水, 充分混匀, 配制成0.625  $\mu\text{mol/mL}$ 标准液使用, 现用现配。(实验中每管需要50  $\mu\text{L}$ , 为减小实验误差, 故配制大体积。)
- 操作表 (在1.5mL离心管中依次加入下列试剂):

试剂名称 ( $\mu\text{L}$ )	测定管	对照管	标准管	空白管
试剂一	300	300	300	300
试剂二	150	-	-	-
蒸馏水	-	150	150	200
标准液	-	-	50	-
样本	50	50	-	-
置于37°C水浴锅或恒温培养箱反应30min				
试剂三	1000	1000	1000	1000

混匀后室温放置2min, 测定400nm的吸光度, 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。每个测定管需设一个对照管。标准管和空白管只需测1-2次。

### 三、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 $10^4$ 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。

$$\begin{aligned} \text{NAG (U/10}^4\text{cell)} &= \Delta A_{\text{测定}} \div (\Delta A_{\text{标准}} \div C_{\text{标}}) \times 1000 \times V_{\text{样}} \div (\text{细胞数量} \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T \\ &= 20.83 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div \text{细胞数量} \end{aligned}$$

#### 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: 标准溶液浓度: 0.625 $\mu\text{mol/mL}$ ; V样: 加入的样本体积, 0.05mL; V样总: 提取液体积, 1mL; 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 $\mu\text{mol}$ =1000nmol。

### 注意事项:

吸光度若大于1.2时, 建议将样本用提取液稀释后进行测定。



扫一扫 加微信

**郑州乐业生物科技有限公司**

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址: 郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话: 400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱: zzlybio@126.com