

N-乙酰-β-D-葡萄糖苷酶 (NAG) 检测试剂盒 (微量法)

货号：PMK1201

保存：-20℃避光保存 6 个月

规格：48T/96T

适用样本：动物组织、细胞、真菌、血清、血浆、尿液等生物液体样本

产品简介

乙酰-β-D-葡萄糖苷酶 (EC 3.2.1.52, N-acetyl-β-D-glucosidase, NAG) 广泛存在于各种组织、体液和细胞中, 是溶酶体中的一种酸性水解酶, 以前列腺和肾近曲小管细胞内含量最高。NAG 活性变化与机体某些病理状态密切相关, 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。本试剂盒提供了一种简单易用的比色法, 用于分析各种生物样品中 NAG 的活性。其原理是 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 下吸光度升高速率来计算 NAG 活性。

产品内容

试剂盒组分	规格		储存条件
	48T	96T	
提取液	50mL	100mL	4℃保存
试剂一	粉剂×1瓶	粉剂×1瓶	-20℃保存
试剂二	2mL	4mL	4℃保存
试剂三	6.5mL	13mL	4℃保存
标准品	1mL	1mL	4℃保存

自备耗材

酶标仪或可见光分光光度计 (能测 400nm 处的吸光度) 及恒温箱
 96 孔板或微量玻璃比色皿、可调节式移液枪及枪头
 离心机、制冰机
 去离子水
 匀浆器 (如果是组织样本)

试剂准备

提取液：即用型；4℃保存。

试剂一：临用前 48T 加入 1.25mL 去离子水，96T 加入 2.5mL 去离子水，充分溶解备用；用不完的试剂分装-20℃保存。

试剂二：即用型；使用前，平衡到室温；4℃保存。

试剂三：即用型；使用前，平衡到室温；4℃保存。

标准品：标准品为 5mM (μmol/mL) 的对硝基苯酚溶液，使用前，平衡到室温；4℃保存。

标准曲线设置：按下表所示，用去离子水将 5 μmol/mL 标准品稀释为 1000、500、250、125、62.5、31.25、15.6nmol/mL 标准溶液 的标准溶液。

	标准品体积 (μL)	去离子水体积 (μL)	标准品浓度 (nmol/mL)
标准品 1	40μL of 5 μmol/mL	160	1000
标准品 2	100μL of 标准品 1 (1000nmol/mL)	100	500

产品说明书

标准品 3	100μL of 标准品 2 (500nmol/mL)	100	250
标准品 4	100μL of 标准品 3 (250nmol/mL)	100	125
标准品 5	100μL of 标准品 4 (125nmol/mL)	100	62.5
标准品 6	100μL of 标准品 5 (62.5nmol/mL)	100	31.25
标准品 7	100μL of 标准品 6 (31.25nmol/mL)	100	15.6

注意：每次实验，请使用新配制的标准品。

样本制备

动物组织：称取约 0.1g 样本，加入 1mL 提取液冰浴匀浆，15,000g，4℃离心 10min，取上清液置冰上待测。
细胞或真菌：收集 500 万细胞或真菌到离心管内，用冷 PBS 清洗细胞或真菌，离心后弃上清，加入 1mL 提取液，超声波破碎细胞或真菌 5min（功率 20%或 200W，超声 3s，间隔 7s，重复 30 次），15,000g，4℃离心 10min，取上清液置冰上待测。

血清、血浆、尿液等生物液体样本：直接检测。

注意：推荐使用新鲜样本，如果不立即进行实验，样本可在-80℃保存 1 个月。如需测定蛋白浓度，推荐使用 BCA 法蛋白质定量试剂盒进行样本蛋白质浓度测定。

实验步骤

1. 酶标仪或可见分光光度计预热 30min 以上，调节波长到 400nm，可见分光光度计去离子水调零。
2. 样本测定（在 96 孔板或微量玻璃比色皿中依次加入下列试剂）：

	标准 (μL)	空白 (μL)	测定 (μL)	对照 (μL)
试剂一	0	0	25	0
去离子水	25	35	0	25
试剂二	35	35	35	35
标准品	10	0	0	0
样本	0	0	10	10

迅速混匀，放入 37℃保温 30min

试剂三	130	130	130	130
-----	-----	-----	-----	-----

充分混匀，400nm 处测定吸光值 A，计算 $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ ， $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}$ 。每个测定管需设一个对照，空白和标准曲线只需要测一次。

注意：1. 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 $\Delta A_{\text{测}}$ 小于 0.005 可适当加大样本量。如果 $\Delta A_{\text{测}}$ 大于 0.6，样本可用去离子水进一步稀释，计算结果乘以稀释倍数。

结果计算

1. 标准曲线的绘制：

以标准品浓度为 y 轴， $\Delta A_{\text{标准}}$ 为 x 轴，绘制标准曲线（浓度为 y 轴更方便计算结果）。将 $\Delta A_{\text{测定}}$ 带入方程计算出 y 值 (nmol/mL)。

2. 样本 NAG 活性计算

(1) 按样本质量计算

单位的定义：每 g 组织在反应体系中每分钟产生 1nmol 对-硝基苯酚定义为一个酶活性单位 U。

NAG 活性 (U/g 质量) = $(y \times V_{\text{反应}}) \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 0.233 \times y \div W$

(2) 按液体样本体积计算

单位的定义：每 mL 液体样本在反应体系中每分钟产生 1nmol 对-硝基苯酚定义为一个酶活性单位 U。

NAG 活性 (U/mL) = $(y \times V_{\text{反应}}) \div V_{\text{样}} \div T = 0.233 \times y$

(3) 按细菌或真菌数量计算

单位的定义：每 1 万个细菌或真菌在反应体系中每分钟产生 1nmol 对-硝基苯酚定义为一个酶活力单位 U。

NAG 活性 (U/10⁴ cell) = $(y \times V_{\text{反应}}) \div (\text{细胞数量} \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 0.233 \times y \div \text{细胞数量}$

产品说明书

(4) 按蛋白浓度计算

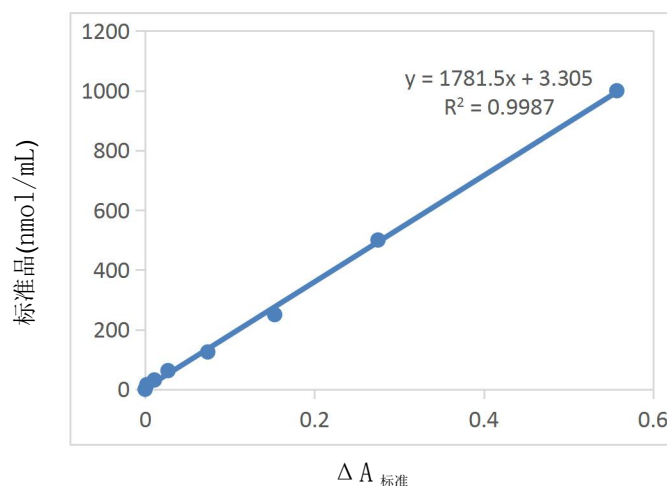
单位的定义：每 mg 组织蛋白在反应体系中每分钟产生 1nmol 对-硝基苯酚定义为一个酶活力单位 U。

NAG 活性 (U/mg prot) = $(y \times V_{\text{反应}}) \div (C_{\text{pr}} \times V_{\text{样}}) \div T = 0.233 \times y \div C_{\text{pr}}$

$V_{\text{反应}}$ ：反应体系总体积，0.07mL； W ：样本质量，g； $V_{\text{样}}$ ：加入样本体积，0.01mL； $V_{\text{样总}}$ ：加入提取液体积，1mL； T ：反应时间，30min； C_{pr} ：样本蛋白质浓度，mg/mL；细胞数量：以万为单位。

结果展示

典型标准曲线



注意事项

1. 实验过程中请穿戴实验服、口罩和乳胶手套。请按照生物实验室的国家安全规定进行实验，尤其是在检测血样或其他体液时。
2. 本试剂盒仅用于实验室科学研究，如果本试剂盒用于临床诊断或任何其他用途，我们将不对任何后果负责。
3. 本试剂盒应在有效期内使用，并严格按照说明书进行存储。
4. 不同批次号、不同厂家之间的组分不要混用；否则，可能导致结果异常。
5. 勤换吸头，避免各组分之间的交叉污染。

相关产品：

PMK1164 葡萄糖检测试剂盒（微量法）

PMK1183 β -1,3 葡聚糖酶（ β -1,3-GA）检测试剂盒（微量法）

PMK1184 α -葡萄糖苷酶（ α -GC）检测试剂盒（微量法）

PMK1185 β -葡萄糖苷酶（ β -GC）/纤维二糖水解酶检测试剂盒（微量法）

PMK1186 α -半乳糖苷酶（ α -GAL）检测试剂盒（微量法）

PMK1187 β -半乳糖苷酶（ β -GAL）检测试剂盒（微量法）

PMK1195 β -葡萄糖醛酸苷酶（ β -GD）检测试剂盒（微量法）

PMK1175 植物可溶性糖检测试剂盒（微量法）

PMK1181 还原糖检测试剂盒（微量法）



更多产品详情了解，请关注公众号：