

β-N-乙酰葡萄糖苷酶(NAG)活性检测试剂盒说明书

产品货号	产品名称	包装规格	测定方法
AMHC5-M48	β-N-乙酰葡萄糖苷酶(NAG)活性检测试剂盒	48T	微量法
AMHC5-M96		96T	

一、测定意义：

β-N-乙酰葡萄糖苷酶为溶酶体中一种重要的酶，可作为肾损伤一个极为灵敏的指标，由休克引起急性肾功能衰竭的机体尿液中极度增高，最高可达正常情况下的 1200 倍。急性肾小球肾炎、肾病综合症，毒物或药物引起的肾毒性反应均可使 NAG 增加。肾移植后，NAG 的测定可用来判断有无排斥反应。

二、测定原理：

底物在 NAG 作用下水解，释放出游离的对硝基酚。加入碱性溶液停止反应，并使对硝基酚显色。在 405nm 处测吸光度，可计算酶活力单位。

三、试剂组成：

试剂名称	试剂装量 (48T)	试剂装量 (96T)	保存条件
提取液	液体 60mL×1 瓶	液体 110mL×1 瓶	2~8℃保存
试剂一	液体 15mL×1 瓶	液体 30mL×1 瓶	2~8℃保存
试剂二	粉剂×1 瓶	粉剂×2 瓶	-20℃保存
试剂二的配制： 用时每瓶粉剂加入试剂一 3mL，混匀充分溶解，-20℃分装保存 1 个月。			
试剂三	液体 15mL×1 瓶	液体 30mL×1 瓶	2~8℃保存
标准品 (1mg/mL)	液体 1mL×1 支	液体 1mL×2 支	2~8℃保存

四、操作步骤：

样本前处理

1、组织：按照组织质量 (g) :提取液(mL)为 1:10 的比例 (建议称取 0.1 g 组织，加入 1 mL 提取液) 进行冰浴匀浆。5000 rpm, 4℃ 离心 10 min, 取上清置冰上待测；

2、细菌/细胞：按照细胞数量 (10⁴ 个) : 提取液体积 (mL) 为 500~1000:1 的比例 (建议 500 万细胞加入 1mL 提取液)，冰浴超声波破碎细胞 (功率 200W, 超声 3 秒, 间隔 7 秒, 总时间 5min)；然后 10000g, 4℃ 离心 10min, 取上清置于冰上待测；

3、血清 (浆) 等液体样本：直接测定。若有浑浊请离心后取上清待测。

测定步骤

- 1、酶标仪预热 30min 以上，调节波长至 405nm，蒸馏水调零；
- 2、试剂回复至常温；
- 3、将 1mg/mL 标准品用蒸馏水依次稀释至 0、0.01、0.02、0.04、0.06、0.08、0.1mg/mL，备用；
- 4、操作表 (在离心管中加入以下试剂)：

试剂名称	测定管	对照管	空白管	标准管
样品 (μL)	10	10	-	-
蒸馏水 (μL)	-	-	10	
不同浓度标准品 (μL)	-	-	-	10
试剂一 (μL)	100	100	100	100
试剂二 (μL)	20	-	20	20
混匀，37℃ 孵育 30min。				
试剂三 (μL)	100	100	100	100
试剂二 (μL)	-	20	-	-
混匀，静置 3min，空白管调零，于波长 405nm 测定各管吸光度，分别记为 A _{测定} ，A _{对照} ，A _{空白} ，A _{标准} ，计算 $\Delta A = A_{测定} - A_{对照}$ ， $\Delta A_{标准} = A_{标准} - A_{空白}$ 。注意：每个样本需设一个对照，空白管和标准管只需做 1-2 个。				

五、β-N-乙酰葡萄糖苷酶(NAG)活性计算：

1、标准曲线绘制：以吸光度值 $\Delta A_{\text{标准}}$ 为横坐标，标准品浓度为纵坐标，绘制标准曲线 $y = kx + b$, x 为吸光度值, y 为标准品浓度(mg/mL)。根据标准曲线，将 ΔA 带入公式计算出样本浓度 (y , mg/mL)；

2、血清样本 NAG 计算

单位定义：每 mL 血清（浆）每小时催化产生 1 μg 对硝基酚的量为一个酶活性单位。

计算公式： $\text{NAG (U/mL)} = y \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样}} \div T = 2 \times y$

3、组织、细胞样本 NAG 计算

(1) 按样本质量计算：

单位定义：每克组织每小时催化产生 1 μg 对硝基酚的量为一个活力单位。

计算公式： $\text{NAG (U/g)} = y \times V_{\text{样}} \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T$
 $= 2 \times y \div W$

(2) 按蛋白浓度计算：

单位定义：每毫克蛋白每小时催化产生 1 μg 对硝基酚的量为一个活力单位。

计算公式： $\text{NAG (U/mg prot)} = y \times V_{\text{样}} \div (V_{\text{样}} \times C_{\text{pr}}) \div T = 2 \times y \div C_{\text{pr}}$

(3) 按照细菌或细胞数量计算：

单位定义：每 1 万个细菌或细胞每小时催化产生 1 μg 对硝基酚的量为一个活力单位。

计算公式： $\text{NAG (U/10}^4 \text{ cell)} = y \times V_{\text{样}} \div (500 \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T$
 $= 0.004 \times y$

$V_{\text{样总}}$: 加入提取液总体积, 1mL; $V_{\text{样}}$: 加入样本体积, 10 μL =0.01mL;

T : 反应时间, 30min=0.5h; C_{pr} : 样本蛋白质浓度, mg/mL; W : 样本质量, g; 500: 细胞数量, 500 万。

六、注意事项：

1、比色时，溶液呈现淡黄色，在 2h 内保持稳定；

2、试剂二需要密封避光保存；

3、不同植物样本的 β -N-乙酰葡萄糖苷酶(NAG)差异较大，根据样本活性可以适当增加或者减少称取样本重量，也可增加反应时间；

4、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。

【厂家信息】

生产企业：南京陌凡生物科技有限公司

地址：南京市栖霞区红枫科技园 A6 栋 2 层

【售后微信】



【说明书核准及修改日期】

核准日期：2025 年 4 月 7 日

修改日期：2025 年 4 月 7 日