

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)

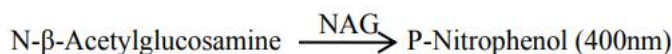
产品货号: BA1934

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、肾移植后的排斥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10⁴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



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司
Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址:上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话:400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱: saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com

1. 分光光度计预热30min以上，调节波长至400nm，蒸馏水调零。
2. 标准溶液的稀释：取125 μL 5 $\mu\text{mol/mL}$ 对硝基苯酚溶液，加入875 μL 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 μL ，为减小实验误差，故配制大体积。）
3. 操作表 (在1.5mL离心管中依次加入下列试剂)：

试剂名称 (μL)	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℃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 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 μmol =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

上海尚宝生物科技有限公司
 Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话：400-611-0007 13671551480

Q Q：807961520

邮箱：saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com