

CheKine™ N-乙酰-β-D-葡萄糖苷酶 (NAG) 活性检测试剂盒 (微量法)

Cat #: KTB1326

Size: 48 T/48 S 96 T/96 S

	N-乙酰-β-D-葡萄糖苷酶 (NAG) 活性检测试剂盒 (微量法)		
REF	货号: KTB1326	LOT	批号: 见产品标签
	适用样本: 动植物组织、细菌和细胞、血清 (浆) 或其他液体		
	保质期: -20°C, 避光保存 6 个月		

原理

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、糖尿病肾病综合征、高血压肾病、肾移植后的排异反应和肾病综合征的早期诊断。CheKine™ N-乙酰-β-D-葡萄糖苷酶 (NAG) 活性检测试剂盒 (微量法) 可检测动植物组织, 细菌和培养细胞、血清或血浆等生物样本。在该试剂盒中, NAG 分解 N-β-乙酰氨基葡萄糖苷生成对硝基苯酚, 后者在 400 nm 有最大吸收峰, 通过测定 400 nm 下吸光度的变化来计算 NAG 活性。

包装清单

试剂盒组分	规格		储存条件
	48 T	96 T	
Extraction Buffer	60 mL	60 mL×2	4°C
Reagent I	Powder×1 vial	Powder×1 vial	-20°C, 避光保存
Reagent II	4.2 mL	8.4 mL	4°C
Reagent III	15.6 mL	31.2 mL	4°C
Standard	1 mL	1 mL	4°C, 避光保存

注意: 正式检测前, 建议选择 2-3 个预期差异较大的样本进行预实验。

自备耗材

- 酶标仪或可见分光光度计 (能测 400 nm 处的吸光度)
- 96 孔板或微量玻璃比色皿、可调节式移液枪及枪头、1.5 mL 离心管
- 水浴锅、低温离心机
- 去离子水
- 匀浆器或研钵 (如果是组织样本)

试剂准备

Extraction Buffer: 即用型；使用前，平衡到室温。4℃保存。

Reagent I: 临用前配制；48 T 加入 1.5 mL 去离子水，96 T 加入 3 mL 去离子水，充分溶解，用不完的试剂-20℃避光保存 1 个月。

Reagent II: 即用型；使用前，平衡到室温。4℃保存。

Reagent III: 即用型；使用前，平衡到室温。4℃保存。

Standard: 即用型；5 μmol/mL 对硝基苯酚溶液，临用前用蒸馏水将标准品稀释 8 倍得 0.625 μmol/mL 的标准溶液。4℃避光保存。

注意：每次实验，请使用新配制的标准品；配制好的标准品需要在 4 h 之内使用。**Standard** 有毒且有刺激性气味，建议在通风橱进行实验。

样本制备

注意：建议使用新鲜样本。如果不立即使用，可将样品在-80℃下保存一个月。测定时，应控制解冻的温度和时间。室温环境下解冻时，需在 4 h 内完成样品解冻。

1. 组织：称取约 0.1 g 样本，加入 1 mL Extraction Buffer，冰浴匀浆，15,000 g，4℃离心 10 min，取上清液，置冰上待测。

2. 细菌和细胞：收集 500 万细菌或细胞到离心管内，用冷 PBS 清洗细菌或细胞，离心后弃上清，加入 1 mL Extraction Buffer，冰浴超声波破碎细菌或细胞 30 次（功率 20%或 200 W，超声 3 s，间隔 7 s），然后 15,000 g，4℃离心 10 min，取上清液，置冰上待测。

3. 血清（浆）等液体样本：直接检测。

注意：如需测定蛋白浓度，推荐使用 **Abbkine** 货号：**KTD3001** 的蛋白质定量试剂盒（**BCA 法**）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 30 min 以上，调节波长到 400 nm，可见分光光度计用去离子水调零。

2. 操作表（下述操作在 96 孔板或微量玻璃比色皿中依次进行）：

试剂	空白孔 (μL)	标准孔 (μL)	测定孔 (μL)	对照孔 (μL)
Reagent I	0	0	25	0
Reagent II	35	35	35	35
Standard	0	10	0	0
去离子水	35	25	0	25
样本	0	0	10	10

迅速混匀，37℃反应 30 min

Reagent III	130	130	130	130
-------------	-----	-----	-----	-----

3. 充分混匀，记录 400 nm 处吸光值，空白孔记为 $A_{空白}$ ，标准孔记为 $A_{标准}$ ，测定孔记为 $A_{测定}$ ，对照孔记为 $A_{对照}$ 。计算 $\Delta A_{测定} = A_{测定} - A_{对照}$ ， $\Delta A_{标准} = A_{标准} - A_{空白}$ 。

注意：空白管和标准管只需做 1-2 次。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 $\Delta A_{测定}$ 小于 0.02 可适当加大样本量。如果 $\Delta A_{测定}$ 大于 1.6，样本可用去离子水进一步稀释，计算结果乘以稀释倍数，或减少提取用样本量。

结果计算

注意：我们为您提供的计算公式，包括推导过程计算公式和简洁计算公式。两者完全相等。建议以加粗的简洁计算公式为最终计算公式。

NAG 活性的计算



(1) 按样本蛋白浓度计算：

酶活单位定义：每毫克蛋白在反应体系中每分钟生成 1 nmol 对硝基苯酚定义为一个酶活力单位。

$$\text{NAG(U/mg prot)} = \frac{\Delta A_{\text{测定}}}{(\Delta A_{\text{标准}} \div C_{\text{标准}})} \times 1,000 \times V_{\text{样}} \div (C_{\text{pr}} \times V_{\text{样}}) \div T = 20.83 \times \frac{\Delta A_{\text{测定}}}{\Delta A_{\text{标准}}} \div C_{\text{pr}}$$

(2) 按样本鲜重计算：

酶活单位定义：每克样本在反应体系中每分钟生成 1 nmol 对硝基苯酚定义为一个酶活力单位。

$$\text{NAG(U/g 鲜重)} = \frac{\Delta A_{\text{测定}}}{(\Delta A_{\text{标准}} \div C_{\text{标准}})} \times 1,000 \times V_{\text{样}} \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times W) \div T = 20.83 \times \frac{\Delta A_{\text{测定}}}{\Delta A_{\text{标准}}} \div W$$

(3) 按照细菌或细胞数量计算

酶活单位定义：每 10⁴ 个细菌或细胞在反应体系中每分钟生成 1 nmol 对硝基苯酚定义为一个酶活力单位。

$$\text{NAG(U/10}^4\text{)} = \frac{\Delta A_{\text{测定}}}{(\Delta A_{\text{标准}} \div C_{\text{标准}})} \times 1,000 \times V_{\text{样}} \div (n \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 20.83 \times \frac{\Delta A_{\text{测定}}}{\Delta A_{\text{标准}}} \div n$$

(4) 按样本体积计算：

酶活单位定义：每毫升液体在反应体系中每分钟催化生成 1 nmol 对硝基苯酚为一个酶活力单位。

$$\text{NAG(U/mL)} = \frac{\Delta A_{\text{测定}}}{(\Delta A_{\text{标准}} \div C_{\text{标准}})} \times 1,000 \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \div T = 20.83 \times \frac{\Delta A_{\text{测定}}}{\Delta A_{\text{标准}}}$$

C_{标准}：标准溶液的浓度，0.625 μmol/mL；V_{样总}：提取液体积，1 mL；V_样：加入的样本体积，0.01 mL；C_{pr}：样本蛋白浓度，mg/mL；

T：反应时间，30 min；n：细菌或细胞数量，以万计；W：样本质量，g；1,000：换算系数，1 μmol=1,000 nmol。

结果展示

以下数据仅供参考，实验者需根据自己的实验对样品进行检测。

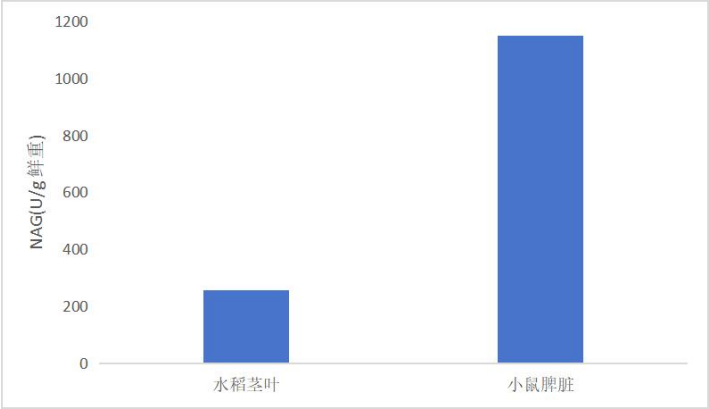


Figure 1. 本试剂盒测定水稻茎叶和小鼠脾脏中 NAG 的活性

相关产品

Catalog No.	Product Name
KTB1341	CheKine™ 糖原合酶活性检测试剂盒（微量法）
KTB1380	CheKine™ β-淀粉酶活性检测试剂盒（微量法）
KTB1390	CheKine™ 淀粉分支酶（SBE）活性检测试剂盒（微量法）

免责声明

本产品仅供科学研究使用，不适用于临床诊断。为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

