

## N-acetyl- $\beta$ -D-glucosaminidase Activity Assay Kit

### N-乙酰- $\beta$ -D-氨基葡萄糖苷酶 (NAG) 试剂盒说明书

货号: G0532W | 方法: 微板法 | 规格: 48 样

#### 一、产品简介:

N-乙酰- $\beta$ -D-氨基葡萄糖苷酶 (NAG, EC 3.2.1.52) 是溶酶体中的一种酸性水解酶, 广泛存在于各种组织、体液和细胞中, 该酶活性变化与机体某些病理状态密切相关。

NAG 分解 4-硝基酚- $\beta$ -N-乙酰氨基葡萄糖生成对-硝基苯酚 (PNP), 在 415nm 处检测该产物的升高速率, 来计算 NAG 活力大小。

#### 二、试剂盒组分与配制:

试剂名称	规格	保存要求	备注
提取液	液体 60mL×1 瓶	4°C保存	
试剂一	粉剂 mg×1 支	-20°C保存	临用前甩几下使粉体落入底部, 再加入 4.2mL 蒸馏水, 充分溶解备用, 用不完的试剂仍-20°C保存;
试剂二	液体 10mL×1 瓶	4°C保存	
试剂三	液体 65mL×1 瓶	4°C保存	
标准品	粉剂×1 支	4°C保存	若重新做标曲, 则用到该试剂

#### 三、所需的仪器和用品:

酶标仪、96 孔板、台式离心机、水浴锅或恒温培养箱、可调式移液器。

#### 四、N-乙酰- $\beta$ -D-氨基葡萄糖苷酶 (NAG) 活性测定:

建议正式实验前选取 2 个样本做预测定, 了解本批样品情况, 熟悉实验流程, 避免实验样本和试剂浪费!

##### 1、样本的制备:

① 组织样本: 取约 0.1g 组织 (水分充足的样本取 0.5g), 加入 1mL 提取液, 进行冰浴匀浆。15000rpm, 4°C离心 10min, 取上清, 置冰上待测。

【注】: 若增加样本, 可以按照组织质量 (g): 提取液体积 (mL) 为 1: 5~10 提取

② 细菌或细胞: 先收集细菌或细胞到离心管内, 离心后弃上清; 取约 500 万细菌或细胞, 加入 1mL 提取液, 超声波破碎细菌或细胞 (冰浴, 功率 20% 或 200W, 超声 3s, 间隔 10s, 重复 30 次); 15000 rpm 4°C离心 10min, 取上清, 置冰上待测。

【注】: 若增加样本, 可按照细菌或细胞数量 ( $10^4$  个): 提取液体积 (mL) 为 500~1000: 1 提取

③ 液体样本: 直接检测。若浑浊, 离心后取上清检测。

##### 2、上机检测:

① 酶标仪预热 30min 以上, 调节波长至 415nm。

② 在 EP 管中依次加入:

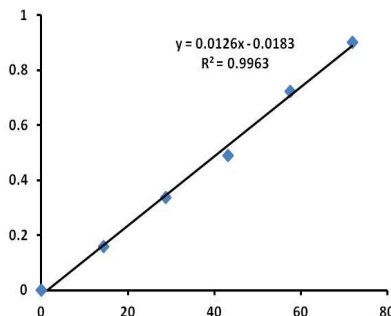
试剂名称 ( $\mu$ L)	测定管	对照管
样本	20	20
试剂一	80	
蒸馏水		80
试剂二	100	100

迅速混匀，37°C保温 30min		
试剂三	600	600
混匀，取 200μL 至 96 孔板中，415nm 处测定吸光值 A， ΔA=A 测定-A 对照（每个测定管需设一个对照管）。		

注意：本操作流程适用于绝大多数常规样本检测，实验条件可根据实际样本状态适度微调；  
针对特殊类型样本，我司技术支持可提供专属优化建议。

## 五、结果计算：

1、标准曲线： $y = 0.0126x - 0.0183$ ；x 为标准品质量（nmol），y 为吸光值 ΔA。



标准曲线示意图

说明：标准曲线由标准品测定获得，具体制作方法详见随货说明书或咨询技术支持。

2、按样本蛋白浓度计算：

单位定义：每毫克组织蛋白每分钟产生 1nmol 对-硝基苯酚（PNP）定义为一个酶活性单位。

NAG 活性(nmol/min/mg prot)=[(ΔA+0.0183) ÷ 0.0126] ÷ (V1 × Cpr) ÷ T = 132.3 × (ΔA+0.0183) ÷ Cpr

3、按样本鲜重计算：

单位定义：每克组织每分钟产生 1nmol 对-硝基苯酚（PNP）定义为一个酶活性单位。

NAG 活性(nmol/min/g 鲜重)=[(ΔA+0.0183) ÷ 0.0126] ÷ (W × V1 ÷ V) ÷ T = 132.3 × (ΔA+0.0183) ÷ W

4、按细菌或细胞密度计算：

单位定义：每 1 万个细菌或细胞每分钟产生 1nmol 对-硝基苯酚（PNP）定义一个酶活单位。

NAG 活性(nmol/min/10<sup>4</sup>cell)=(ΔA+0.0183) ÷ 0.0126 ÷ (500 × V1 ÷ V) ÷ T = 0.26 × (ΔA+0.0183)

5、按液体体积计算：

单位定义：每毫升样本每分钟产生 1nmol 对-硝基苯酚（PNP）定义为一个酶活性单位。

NAG 活性(nmol/min/mL)=[(ΔA+0.0183) ÷ 0.0126] ÷ V1 ÷ T = 132.3 × (ΔA+0.0183)

V---加入提取液体积，1mL；

V1---加入反应体系中样本体积，20μL=0.02mL；

W---样本质量，g；

500---细胞或细菌总数，500 万；

T--反应时间，30min；

PNP 对分子质量---139.11；

Cpr---样本蛋白质浓度，mg/mL，建议使用本公司的 BCA 蛋白含量检测试剂盒。