

β-N-乙酰氨基葡萄糖苷酶(NAG)测试盒

比色法：50 管/24 样

一、测定原理：

β-N-乙酰氨基葡萄糖苷酶（β-N-Acetylglucosaminidase, NAG）广泛存在于各种组织器官、体液、红细胞、白细胞及血小板中，是溶酶体中的一种酸性水解酶。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 400nm 处测吸光度，可计算酶活力单位。

二、试剂组成及配制：

试剂一：溶液 40ml×1 瓶。

试剂二：底物，粉剂×1 支。

试剂三：终止剂 60ml×2 瓶。

试剂四：液体 6ml×1 瓶。（天冷会有结晶析出，测试前置于 37℃水浴直至透亮）

试剂五：3mmol/L 对硝基酚标准贮备液 2ml×1 瓶。0.6mmol/L 对硝基酚标准应用液的配制：3mmol/L 对硝基酚标准贮备液作 5 倍稀释，即 3mmol/L 对硝基酚：双蒸水=1：4 稀释。底物缓冲液的配制：底物溶解度小，配制底物溶液时，应先用适量试剂一将试剂二粉剂 1 支调成糊状，再边搅拌边逐渐加试剂一到 30ml，混匀至完全溶解（不可加热）。配好后的底物缓冲液为过饱和溶液，如有结晶，可静置或离心后取上清进行检测。用不完的底物缓冲液 4℃可保存两个月以上。

三、操作步骤：

	空白管	标准管	测定管	对照管
双蒸水（ml）	0.1			
0.6mmol/L 对硝基酚标准液（ml）		0.1		
样品（ml）			0.1	0.1
试剂一（ml）	3.0	3.0	3.0	
底物缓冲液（ml）			0.5	
混匀，37℃准确反应 15 分钟。				
试剂三（ml）	2	2	2	2
底物缓冲液（ml）				0.5
试剂四（ml）	0.05	0.05	0.05	0.05

混匀，在 400nm 处，1cm 光径，双蒸水调零测各管吸光度 OD 值。

四、单位定义及计算：

1、血清浆、尿液样本单位定义及计算

①、单位定义：每升样品与底物在 37℃作用 1 分钟，水解产生 1μmol 对硝基酚为 1 个酶活

力单位。

②、计算公式：

$$\text{NAG 活力 (U/L)} = \frac{\text{测定 OD 值} - \text{对照 OD 值}}{\text{标准 OD 值} - \text{空白 OD 值}} \times \text{标准品浓度} \times \frac{1}{\text{反应时间(15分钟)}} \times 1000$$

2、组织样本单位定义及计算

①、单位定义：

每克组织蛋白与底物在 37℃作用 1 分钟，水解产生 1μmol 对硝基酚为 1 个酶活力单位。

②、计算公式：

$$\text{组织中 NAG 活力 (U/gprot)} = \frac{\text{测定 OD 值} - \text{对照 OD 值}}{\text{标准 OD 值} - \text{空白 OD 值}} \times \text{标准品浓度} \times \frac{1000}{\text{反应时间(15分钟)}} \div 1\% \text{匀浆蛋白浓度 (gprot/L)}$$