β-N-乙酰氨基葡萄糖苷酶(NAG)测定试剂盒

（货号：BC120　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 2-8℃保存，有效期 6 个月）

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。用时取部分 3mmol/L 对硝基酚标准贮备液与蒸馏水 1:4 混合，配成 **600μmol/L 对硝基酚标准应用液，**现用现配。

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、液体样本中 NAG 测定：

1、样本前处理：直接取样测定。

2、操作步骤：

	空白管	标准管	测定管	对照管
蒸馏水（mL）	0.1			
0.6mmol/L 标准液（mL）		0.1		
样品（mL）			0.1	0.1
试剂一（mL）	0.5	0.5		
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，蒸馏水调零测各管吸光度值 A				

3、计算及举例：

①、**定义：**每升样品每分钟在 37℃与底物作用，水解产生 1μmol 对硝基酚为 1 个酶活力单位（U）。

②、**计算公式：**

$$\text{NAG活力（U/L）} = \frac{A_{测定} - A_{对照}}{A_{标准} - A_{空白}} \times C_{标准} \times \frac{V_{标准}}{V_{样}} \div T$$

$C_{标准}$：标准液浓度,600μmol/L；

$V_{标准}$：标准品取样量，0.1×10^{-3}L；

$V_{样}$：样本取样量，0.1×10^{-3}L；

T：反应时间,15 分钟。

③、计算举例：

例 1:取血清 0.1mL 按操作表进行检测，测得各管吸光度如下：空白管为 0.003，标准管为 0.436，对照管为 0.148，测定管为 0.432。则计算如下：

$$\text{NAG 活力（U/L）} = \frac{0.432-0.148}{0.436-0.003} \times 600 \div 15 = 26.236\ \text{U/L}$$

例 2:取尿液 0.1mL 按操作表进行检测，测得各管吸光度如下：空白管为 0.003，标准管为 0.436，对照管为 0.102，测定管为 0.140。则计算如下：

$$\text{NAG 活力（U/L）} = \frac{0.140-0.102}{0.436-0.003} \times 600 \div 15 = 3.510\ \text{U/L}$$

四、 组织样本中 NAG 的测定

1、样本前处理：

准确称取样本的重量，按照重量(g):体积(mL)=1：9 的比例，加入 9 倍体积的生理盐水，冰水浴条件下机械匀浆，制成 10%匀浆，2500 转/分，离心 10 分钟，取上清再用生理盐水稀释成 1%的匀浆液待测。(该匀浆浓度仅为参考用，客户测定时可以根据这一浓度自行摸索样本的实际所需浓度)

2、操作步骤：

	空白管	标准管	测定管	对照管
蒸馏水（mL）	0.02			
3mmol/L 标准液（mL）		0.02		
样品（mL）			0.02	0.02
试剂一（mL）	0.5	0.5		
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，蒸馏水调零测各管吸光度值 A				

3、计算及举例：

①、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（U）。

②、计算公式：

$$\text{组织NAG活力（U/gprot）} = \frac{A_{测定} - A_{对照}}{A_{标准} - A_{空白}} \times C_{标准} \times \frac{V_{标准}}{V_{样}} \div T \div Cpr$$

$C_{标准}$**：** 标准液浓度, 3mmol/L（3000μmol/L）;

T： 反应时间,15 分钟;

$V_{标准}$：标准品取样量，0.1×10^{-3}L;

$V_{样}$：样本取样量，0.1×10^{-3}L;

Cpr:组织匀浆蛋白浓度，gprot/L（prot 指蛋白）。

③、计算举例：取 1%大鼠肾脏皮质匀浆 0.02mL 按操作表进行检测，测得各管吸光度如下：空白管为 0.003，标准管为 0.392，对照管为 0.065，测定管为 0.519，用考马斯亮兰法测得 1%匀浆蛋白含量为 1.241g/L，则计算如下：

$$\text{组织NAG活力（U/gprot）} = \frac{0.519-0.065}{0.392-0.003} \times 3 \div 15 \div 1.241 = 188.09\ \text{U/gprot}$$

五、注意点：

1、用分光光度计测定时吸光度至 0.60 或酶活力至 60 单位呈线性，超出此范围应将标本用生理盐水稀释后重测，结果乘以稀释倍数。

2、尿酶浓度随尿流率而变动，因此尿酶测定要求留取 24 小时尿；但因留 24 小时尿不方便，也不准确，故用“酶单位/肌酐”比值计算酶排出率，效果较好。