

Sialic Acid (SA) Content Assay Kit

唾液酸(SA)含量测定试剂盒说明书

货号:BN72589 | 方法:微板法 | 规格:96 样

一、产品简介:

唾液酸是神经氨酸,广泛存在动物组织及微生物中,是细胞膜糖蛋白和糖脂的重要成份,位于细胞膜糖蛋白及糖脂末端,参与细胞表面多种生理功能。恶性肿瘤表面糖蛋白和糖脂的结构及含量发生明显变化,可使多量的 SA 从癌细胞表面脱落进入血液,使血清 SA 升高,其含量的测定对某些先天性代谢障碍及 Behcet 综合症的研究具有重要意义。SA 升高也是心血管疾病的危险因素之一。

唾液酸受神经氨酸苷酶的作用,形成 N-乙酰神经氨酸,进而在 N-乙酰神经醛缩酶的作用下生成丙酮酸和 N-乙酰甘露糖醇。丙酮酸在 NADH 存在下由乳酸脱氢酶(LDH)作用下生成乳酸和 NAD^+ ,通过测定 NADH 吸光度下降速率即可得到样品中唾液酸的浓度。

二、试剂盒组分与配制:

试剂名称	规格	保存要求	备注
试剂一	液体 15mL×1 瓶	4℃保存	
试剂二	液体 5mL×1 瓶	4℃保存	
标准管	液体 0.2mL×1 支	4℃保存	浓度为70.0mg/dL。

三、所需仪器和用品:

酶标仪、96 孔板、可调式移液器、离心机、蒸馏水。

四、唾液酸(SA)含量检测:

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,避免样本和试剂浪费!

1、样本制备:

① 血清。新鲜样本采血后尽快分离血清,血清在 4℃可稳定一周。

当样本中 VC≤100mg/dL,胆红素≤50mg/dL,血红蛋白≤500mg/dL 时未观察到明显干扰。

② 组织样本:

称取约 0.1g 组织样本加入研钵中,加入 1mL 生理盐水,进行冰浴匀浆,8000rpm,4℃或室温离心 10min,取上清液待测。

【注】:若增加样本量,可按照组织质量(g):提取液(mL)为 1:5~10 的比例进行提取。

③ 细胞样本:

先收集细胞到离心管内,离心后弃上清;取约 500 万细胞加入 1mL 生理盐水,超声波破碎细菌或细胞(冰浴,功率 200W,超声 3s,间隔 10s,重复 30 次);12000rpm 室温离心 10min,取上清,置冰上待测。

【注】:若增加样本量,可按细胞数量(10^4):提取液(mL)为 500~1000:1 的比例进行提取。

2、上机检测:

① 酶标仪预热 30min,设定波长到 340nm。

② 所有试剂解冻至室温，在 96 孔板中依次加入：

试剂名称 (μL)	测定管	标准管 (仅做一次)
样本	7	
标准品		7
试剂一	150	150
37°C条件下，孵育 5min。		
试剂二	50	50
混匀，37°C条件下，30s 时于 340nm 处读取吸光值 A1，5min30s 时读取 A2。ΔA = A1-A2。		

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、按照体积计算：

$$\text{唾液酸(SA) (mg/dL)} = (C_{\text{标准}} \times V_2) \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div V_1 \times D = 70 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \times D$$

2、按样本质量计算：

$$\text{唾液酸(SA) (mg/g)} = (C_{\text{标准}} \times V_2) \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div (V_1 \div V \times W) \times D = 0.7 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div W \times D$$

3、按细胞数量计算：

$$\text{唾液酸(SA) (mg/10}^4 \text{ cell)} = (C_{\text{标准}} \times V_2) \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div (V_1 \div V \times 500) \times D = 0.7 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div 500 \times D$$

C 标准---标品浓度，70.0mg/dL=0.7mg/mL；

V1---加入样本体积，0.007mL；

V2---加入标准品体积，0.007mL；

V---提取液体积，1mL；

W---质量，g；

500---细胞数量，万；

D---稀释倍数，未稀释即为 1。

重复性 CV 不大于 10%；批间相对极差 R 不大于 10%。