

唾液酸(SA)含量测定试剂盒说明书（神经氨酸苷酶法）

（货号：BP10153W 微板法 96 样 有效期：3 个月）

一、指标介绍：

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：

试剂组分	试剂规格	存放温度	注意事项
试剂一	液体 15mL×1 瓶	4℃避光保存	
试剂二	液体 5mL×1 瓶	4℃避光保存	
标准管	液体 0.2mL×1 支	4℃避光保存	浓度见标签

三、实验器材：

研钵（匀浆机）、天平、冰盒（制冰机）、台式离心机、可调式移液枪、水浴锅（烘箱、培养箱、金属浴）、96 孔板、离心管、酶标仪、蒸馏水（去离子水、超纯水均可）

四、指标测定：

建议先选取 1-3 个差异大的样本（例如不同类型或分组）进行预实验，熟悉操作流程，根据预实验结果确定或调整样本浓度，以防造成样本或试剂不必要的浪费！

1、样本提取：

① 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。

② 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。

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（10⁴）：提取液（mL）为 500~1000：1 的比例进行提取。

2、检测步骤：

① 酶标仪预热 30min（等待仪器过自检程序亦可），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：

试剂组分 (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 A1，15min30s 时读取 A2。ΔA = A1-A2。		

【注】：1. 若ΔA 大于 0.6，可用生理盐水或蒸馏水对样本进行稀释，稀释倍数 D 代入计算公式。

2. 若ΔA 值小于 0.01，可增加样本加样体积 V1（如由 7μL 增至 20μL，空白管也由 7μL 增至 20μL 蒸馏水，标准管是 7μL 标准品和 13μL 蒸馏水；其他试剂均保持不变）。则改变后的 V1 代入公式重新计算。或者测定管和标准管和空白管均增加至 10min30s 时读取 A2 值，则重新计算ΔA 并代入计算。

五、结果计算：

1、按样本质量计算：

$$\text{唾液酸(SA) (mg/g)} = (C_{\text{标准}} \times V_2) \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div (V_1 \div V \times W) \times D = C_{\text{标准}} \div 100 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div W \times D$$

2、按蛋白浓度计算：

$$\text{唾液酸(SA) (mg/mg prot)} = (C_{\text{标准}} \times V_2) \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div (V_1 \div V \times C_{\text{pr}}) \times D = C_{\text{标准}} \div 100 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div C_{\text{pr}} \times D$$

3、按照体积计算：

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

4、按细胞数量计算：

$$\text{唾液酸(SA) (mg/10}^4 \text{ cell)} = (C_{\text{标准}} \times V_2) \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div (V_1 \div V \times 500) \times D = C_{\text{标准}} \div 100 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div 500 \times D$$

C 标准---标品浓度，见标签；

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。

Cpr---上清液蛋白浓度，mg/mL，建议使用本公司的 BCA 蛋白含量检测试剂盒

重复性 CV 不大于 10%；批间相对极差 R 不大于 10%。